

INFORMACIÓN CONFIDENCIAL



We create chemistry

**SOLICITUD DE PERMISO DE LIBERACIÓN AL AMBIENTE EN PROGRAMA PILOTO DE ALGODÓN GLYTOL® TWINLINK® - GLT (GHB614 x T304-40 x GHB119; OECD: BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8), EN LA REGIÓN AGRÍCOLA DE BAJA CALIFORNIA Y NORTE DE SONORA, PARA EL CICLO AGRÍCOLA PRIMAVERA - VERANO 2020.**

**Compañía:**

**BASF Mexicana, S.A. de C.V.**

Ciudad de México, a 1 de agosto de 2019.



Confidential

**CONTENIDO**

**CONTENIDO ..... 2**

**LISTA DE CUADROS ..... 4**

**LISTA DE FIGURAS ..... 5**

**Artículo 5. Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados. .... 6**

    1. Nombre, denominación o razón social del promovente y, en su caso, nombre del representante legal. .... 6

**I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PERMISO DE LIBERACIÓN EXPERIMENTAL O COPIA DEL REFERIDO PERMISO. .... 7**

**I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PERMISO DE LIBERACIÓN EXPERIMENTAL O COPIA DEL REFERIDO PERMISO. .... 7**

**II. REFERENCIA Y CONSIDERACIONES SOBRE EL REPORTE DE LOS RESULTADOS DE LA O LAS LIBERACIONES EXPERIMENTALES EN RELACIÓN CON LOS POSIBLES RIESGOS AL MEDIO AMBIENTE Y LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA Y, ADICIONALMENTE, A LA SANIDAD ANIMAL, VEGETAL O ACUÍCOLA. .... 7**

    i. Lineamientos del protocolo propuesto para la liberación experimental o en programa piloto ..... 8

    ii. Cambios fenotípicos del OGM respecto a su adaptación al área de liberación ..... 8

    iii. Efectos de los genes de selección y posibles efectos sobre la biodiversidad ..... 9

    iv. Caracterización bioquímica y metabólica de todos los productos del gen novedoso con relación a su actividad, productos de degradación o subproductos, productos secundarios y rutas metabólicas ..... 9

    v. Cambios en la capacidad competitiva del OGM en comparación con la contraparte no modificada, incluyendo supervivencia y reproducción, producción de estructuras reproductoras, periodos de latencia y duración del ciclo de vida ..... 18

    vi. Posibles efectos al ambiente y a la diversidad biológica por la liberación del OGM, incluyendo, el protocolo utilizado para establecer estos posibles efectos ..... 19

    vii. Efectos de las prácticas de uso y aprovechamiento ..... 25

    viii. En su caso, referencia bibliográfica sobre los datos presentados ..... 29

**III. CANTIDAD DEL OGM A LIBERAR ..... 32**

**IV. CONDICIONES DE MANEJO QUE SE DARÁN AL OGM ..... 32**

**V. IDENTIFICACIÓN DE LA ZONA O ZONAS DONDE SE PRETENDA LIBERAR EL OGM ..... 36**

    V.a Superficie total del predio o predios donde se realizará la liberación ..... 36

    V.b Ubicación, en coordenadas UTM, del polígono o polígonos donde se realizará la liberación ..... 36

    V.c Descripción de los polígonos donde se realizará la liberación y de las zonas vecinas a éstos en un radio según las características de diseminación del OGM de que se trate: ..... 36

**VI. MEDIDAS DE MONITOREO Y DE BIOSEGURIDAD A REALIZAR ..... 45**

    VI.a Medidas de monitoreo: ..... 45

    VI.b Medidas de bioseguridad: ..... 47

**VII. NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM SE DESTINE PARA USO O CONSUMO HUMANO, O SE DESTINE A PROCESAMIENTO DE**

<b>ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO, O TENGA FINALIDADES PARA SALUD PÚBLICA O A LA BIORREMEDIACIÓN. ....</b>	<b>48</b>
<b>VIII. EN CASO DE IMPORTACIÓN DEL OGM, COPIA LEGALIZADA O APOSTILLADA DE LAS AUTORIZACIONES O DOCUMENTACIÓN OFICIAL QUE ACREDITE QUE EL OGM ESTÁ PERMITIDO CONFORME A LA LEGISLACIÓN DEL PAÍS DE ORIGEN, TRADUCIDA EN ESPAÑOL.....</b>	<b>48</b>
<b>IX LA PROPUESTA DE VIGENCIA DEL PERMISO Y LOS ELEMENTOS EMPLEADOS PARA DETERMINARLA .....</b>	<b>49</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Permisos experimentales para la liberación de algodón GLT en la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora. ....	7
<b>Cuadro 2.</b> Reportes de resultados de las liberaciones de algodón GLT en Baja California y Norte de Sonora. ....	7
<b>Cuadro 3.</b> Comparación de la secuencia deducida de aminoácidos de la proteína 2mEPSPS con otras proteínas EPSPS. ....	15
<b>Cuadro 4.</b> Lepidópteros blanco de la tecnología GLT presentes en las evaluaciones del Valle de Mexicali. ....	22
<b>Cuadro 5.</b> Principales especies de maleza presentes en el cultivo de algodón en Mexicali y el Norte de Sonora. ....	24
<b>Cuadro 6.</b> Escala propuesta por la EWRS (European Weed Research Society) para evaluar el control de malezas y la fitotoxicidad al cultivo y su interpretación agronómica porcentual. ....	25
<b>Cuadro 7.</b> Superficie de cultivos biotecnológicos en México, 2017. ....	26
<b>Cuadro 8.</b> Superficie y cantidad de semilla solicitada. ....	32
<b>Cuadro 9.</b> Superficie y cantidad de semilla solicitada. ....	36
<b>Cuadro 10.</b> Especies de <i>Gossypium</i> reportadas en la literatura para el Norte de México. ....	37

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representación esquemática del mecanismo de acción del glifosato y el mecanismo de tolerancia mediado por 2mEPSPS. ....	10
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de acción del herbicida glufosinato de amonio.....	12
<b>Figura 3.</b> Mecanismo de acción de la proteína PAT que confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.....	12
<b>Figura 4.</b> Producción nacional de algodón durante el periodo 2010 - 2018 (SIAP, 2018). ....	27
<b>Figura 5.</b> Producción nacional de algodón hueso en 2017 (SIAP, 2018). ....	27
<b>Figura 6.</b> Producción de algodón hueso en Mexicali, Baja California y San Luis Río Colorado, Sonora, en 2017 (SIAP, 2019).....	28
<b>Figura 7.</b> Distribución puntual de <i>Gossypium hirsutum</i> y de sus parientes silvestres con los que puede hibridar y tener descendencia viable.....	38
<b>Figura 8.</b> Regiones ecológicas comprendidas en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.....	39
<b>Figura 9.</b> Tipos de suelo presentes en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora. ....	41
<b>Figura 10.</b> Tipos de clima presentes en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora. ....	42
<b>Figura 11.</b> Precipitación promedio en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora. ....	42
<b>Figura 12.</b> Zona agrícola en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora....	43
<b>Figura 13.</b> Áreas naturales protegidas adyacentes al polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.....	44
<b>Figura 14.</b> Ruta de carreteras dentro del polígono de liberación. ....	45

**Artículo 5. Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados.**

**1. Nombre, denominación o razón social del promovente y, en su caso, nombre del representante legal.**

BASF Mexicana, S.A. de C.V. (en lo sucesivo BASF)

**I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PERMISO DE LIBERACIÓN EXPERIMENTAL O COPIA DEL REFERIDO PERMISO.**

**I. DATOS DE IDENTIFICACIÓN DEL PERMISO DE LIBERACIÓN EXPERIMENTAL O COPIA DEL REFERIDO PERMISO.**

Con fundamento en lo dispuesto por los artículos 32, fracción II y 50 de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, así como en los artículos 5 y 17 de su Reglamento, se presenta esta solicitud de permiso de liberación al ambiente en programa piloto de algodón al ambiente de algodón GlyTol® TwinLink® - GLT (GHB614 x T304-40 x GHB119; OECD: BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8) en las regiones agrícolas de Baja California y Norte de Sonora, para el ciclo agrícola Primavera-Verano 2020.

**Cuadro 1.** Permisos experimentales para la liberación de algodón GLT en la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora.

No. Permiso	No. Solicitud	Etapas	Fecha de emisión
B00.04.03.02.01.- 1605/2015	022_2014	Experimental	30-marzo-2015
B00.04.03.02.01.- 1238/2017	017_2016	Experimental	15-marzo-2017

**II. REFERENCIA Y CONSIDERACIONES SOBRE EL REPORTE DE LOS RESULTADOS DE LA O LAS LIBERACIONES EXPERIMENTALES EN RELACIÓN CON LOS POSIBLES RIESGOS AL MEDIO AMBIENTE Y LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA Y, ADICIONALMENTE, A LA SANIDAD ANIMAL, VEGETAL O ACUÍCOLA.**

Conforme a lo dispuesto en el artículo 46 de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados, el artículo 18 de su Reglamento, así como, en la Norma Oficial Mexicana NOM-164-SEMARNAT/SAGARPA-2013; el reporte contendrá lo siguiente:

De conformidad con lo establecido en los Artículos 5, 17 y 18 del Reglamento de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados y en la Guía para la Integración de solicitudes de permisos de liberación al ambiente de Organismos Genéticamente Modificados en **Etapas Piloto**, competencia de la SAGARPA: Caso Algodón; se anexan a la presente solicitud los acuses impresos y en formato electrónico de los reportes de resultados de las liberaciones experimentales previas (cuadro 2), mismos que corresponden a los permisos listados en el cuadro 1.

**Cuadro 2.** Reportes de resultados de las liberaciones de algodón GLT en Baja California y Norte de Sonora.

No. Permiso	No. Solicitud	Etapas	Estado de entrega del Reportes de Resultados
B00.04.03.02.01.- 1605/2015	022_2014	Experimental	Entregado

B00.04.03.02.01.- 1238/2017	017_2016	Experimental	Entregado
-----------------------------	----------	--------------	-----------

Con base en lo anterior, solicitamos que en la evaluación de la presente solicitud tome en cuenta los resultados de las evaluaciones realizadas, mediante las cuales se ha demostrado que el algodón GLT representa una alternativa productiva viable para los productores de la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora, y que su uso no conlleva riesgos adicionales a la sanidad vegetal, animal y acuícola, así como al medio ambiente, cuando se compara con los riesgos derivados de las actividades agrícolas convencionales.

**i. Lineamientos del protocolo propuesto para la liberación experimental o en programa piloto**

Los lineamientos de los protocolos propuestos “Evaluación agronómica, económica y ambiental de la tecnología GlyTol® TwinLink® en algodón en programa piloto en Baja California y Norte de Sonora durante el ciclo agrícola PV-2020” y “Evaluación del costo-beneficio de la tecnología GlyTol® TwinLink® en algodón en programa piloto en Baja California y Norte de Sonora durante el ciclo agrícola PV-2020”, se encuentran dentro de los mismos.

**ii. Cambios fenotípicos del OGM respecto a su adaptación al área de liberación**

El evento apilado GHB614 x T304-40 x GHB119 (GLT), porta los genes *cry1Ab* y *cry2Ae*, los cuales le proporcionan resistencia contra el ataque de insectos lepidópteros y los genes *bar* y *2mepsps* los cuales le confieren tolerancia a la aplicación de los herbicidas glufosinato de amonio y glifosato, respectivamente.

En las regiones agrícolas de Baja California y Norte de Sonora, se han efectuado diversas comparaciones del comportamiento agronómico y fenotípico de las variedades GLT con su contraparte convencional. Asimismo, como parte de los resultados de los estudios realizados en los años 2015 y 2017, se considera que la modificación genética hecha al algodón GLT representa una ventaja competitiva solamente dentro del agroecosistema del cultivo mismo, ya que fuera de este ambiente el algodón GLT es equivalente a su contraparte convencional y no exhibe características diferentes en su capacidad de adaptación, dispersión, desarrollo fenológico y germinación.

Garzón y Cruz en 2015 y 2017, realizaron ensayos para evaluar la equivalencia agronómica y fenotípica del algodón GLT y el algodón convencional en el Valle de Mexicali.

Los resultados mostraron que las variedades con tecnología GLT se comportaron de manera equivalente con respecto a la variedad convencional FM 989 utilizada como comparador. Así mismo, en ninguna de las evaluaciones se observó alguna tendencia que indicara un incremento en la capacidad competitiva del algodón GLT, que originara un incremento de su potencial como maleza y que representara un riesgo a la Sanidad vegetal o al Medio ambiente.



### iii. Efectos de los genes de selección y posibles efectos sobre la biodiversidad

Los genes que funcionan como marcadores de selección (*bar* y *2mepsps*) en el algodón GLT no muestran actividad diferente, ni interfieren en las características de tolerancia a la aplicación de los herbicidas glifosato y glufosinato de amonio, además de protección contra el ataque de insectos lepidópteros.

### iv. Caracterización bioquímica y metabólica de todos los productos del gen novedoso con relación a su actividad, productos de degradación o subproductos, productos secundarios y rutas metabólicas

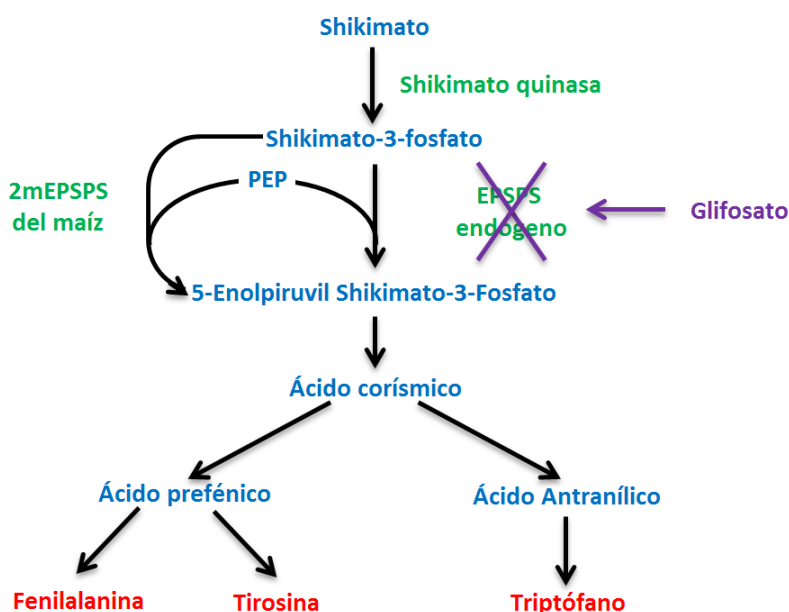
El algodón GLT fue desarrollado mediante cruce mendeliana convencional entre los eventos GHB614, T304-40 y GHB119. El evento GHB614 se produjo mediante la inserción estable de la secuencia codificante para la proteína 2mEPSPS derivada del maíz (*Zea mays* L.). El evento T304-40 se produjo a través de la inserción estable de las secuencias codificantes de las proteínas Cry1Ab de la bacteria *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner* y PAT/*bar* derivado de la bacteria *Streptomyces hygroscopicus*. De igual manera, el evento GHB119 se produjo a través de la inserción estable en el genoma del algodón de las secuencias codificantes para las proteínas Cry2Ae de la bacteria *Bacillus thuringiensis* subsp. *dakota* y PAT/*bar* derivado de la bacteria *Streptomyces hygroscopicus*. La combinación de estos eventos en el algodón GLT provee protección contra daños de insectos lepidópteros y tolerancia a los herbicidas glifosato y glufosinato de amonio.

#### iv.1. Proteína 2mEPSPS.

El evento GHB614 produce la proteína 5-enolpiruvilshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) codificada por el gen *2mepsps* derivado del maíz (*Zea mays* L.) (Herouet-Guicheney *et al.*, 2009). El gen *2mepsps* consta de 1338 pb y ha sido modificado a través de mutagénesis sitio-dirigida para codificar una enzima insensible a la desactivación por glifosato (Lebrun *et al.*, 1997). Para restaurar el sitio de escisión del péptido de tránsito se adicionó el aminoácido metionina en el extremo N-terminal de la secuencia de la proteína 2mEPSPS (De Beuckeleer, 2003), la cual, está constituida por 445 aminoácidos y tiene un peso molecular de ~47.5 kDa. La expresión de la proteína 2mEPSPS confiere tolerancia al herbicida glifosato en las plantas de algodón.

El mecanismo de acción del glifosato consiste en la inhibición competitiva de la enzima 5-enolpiruvil-shikimate-3-fosfato sintasa (EPSPS) en la ruta metabólica del shikimate (Sikorski & Gruys, 1997). La inhibición de la enzima EPSPS por el glifosato bloquea esta ruta metabólica, lo cual eventualmente provoca la muerte de la célula (Steinrucken & Amrhein, 1980). La enzima EPSPS cataliza la transferencia reversible del grupo enolpiruvil desde el fosfoenol piruvato (PEP) al 5-hidroxil de shikimate-3-fosfato (S3P) resultando en la producción de fosfato inorgánico y 5-enolpiruvil-shikimate-3-fosfato (EPSP) (Alibhai & Stallings, 2001), sitio de inhibición por el glifosato. Este es el único producto metabólico conocido y 5-enolpiruvil-shikimate-3-fosfato es el

penúltimo producto de la vía del ácido shikímico. El ácido shikímico es un sustrato para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, triptófano y tirosina) como también de varios metabolitos secundarios, como el tetrahidrofolato, la ubiquinona y la vitamina K. Es importante destacar que la vía del shikimato y, por lo tanto, las proteínas EPSPS no están presentes en mamíferos, peces, aves, reptiles e insectos, lo cual contribuye con la baja toxicidad del herbicida glifosato para estos organismos (Bentley, 1990; Alibhai & Stallings, 2001; Eschenburg *et al.*, 2002). En contraste, se ha calculado que las moléculas aromáticas, todas derivadas del ácido shikímico, representan el 35% o más del peso seco de una planta (Franz *et al.* 1997). La unión del sustrato a la enzima es secuencial, iniciando con la unión del S3P y posteriormente el PEP (Boocock and Coggins, 1983). La reacción catalizada por la enzima EPSPS inicia con el rompimiento del enlace C-O del PEP (Walsh *et al.*, 1996) (Figura 1).



La inhibición de la actividad enzimática de EPSPS ocurre debido a la formación de un complejo ternario de EPSPS-S3P-glifosato. La unión de glifosato bloquea de manera eficaz la unión de PEP y evita la catálisis EPSPS de S3P y PEP. Sin embargo, en presencia de 2mEPSPS, la afinidad por PEP es mucho mayor que la afinidad por el glifosato, entonces 2mEPSPS se une preferentemente al PEP incluso en presencia del glifosato y la catálisis continúa del mismo modo en que lo hace frente a la ausencia de glifosato. Esta diferencia en la afinidad de unión del glifosato es la base para la tolerancia al glifosato en plantas transformadas con 2mEPSPS. La enzima 2mEPSPS continúa funcionando en presencia del glifosato y produce los aminoácidos aromáticos y demás metabolitos necesarios para el crecimiento y el desarrollo normal de la planta.

**Figura 1.** Representación esquemática del mecanismo de acción del glifosato y el mecanismo de tolerancia mediado por 2mEPSPS.

La familia de proteínas EPSPS está ampliamente distribuida en la naturaleza en plantas, hongos y microorganismos. En las plantas, la enzima EPSPS es codificada por un gen nuclear y sintetizada como una pre-proteína (unida al péptido de tránsito) por ribosomas libres en el citoplasma celular; el péptido de tránsito permite el transporte a los cloroplastos. La pre-proteína es transportada al interior del estroma del cloroplasto y es procesada proteolíticamente para producir la enzima madura (Kishore and Shah, 1988; Forlani *et al.*, 1994; Lebrun *et al.*, 1997).

Una vez desprendido, el péptido de transferencia al cloroplasto se degrada rápidamente (Bartlett *et al.*, 1982; Della-Cioppa *et al.*, 1986).

Desde la década de 1980 se han realizado varios intentos para identificar y caracterizar enzimas EPSPS insensibles a glifosato a partir de varios organismos, con el objetivo de obtener plantas genéticamente modificadas tolerantes a este herbicida (Kishore and Shah, 1988). Lebrun *et al.* (1997) seleccionaron un gen con doble mutación a partir del maíz, el cual unido a un péptido de tránsito quimérico optimizado ha permitido obtener una óptima tolerancia a glifosato en varios cultivos, sin efecto pleiotrópicos: el gen *2mepsps* codificando la proteína 2mEPSPS. El gen *2mepsps* ha sido introducido como fuente de tolerancia a glifosato en maíz evento GA21, el cual ha sido aprobado por diferentes agencias para liberación al ambiente y consumo alrededor del mundo. Otro cultivo en el cual se ha logrado la tolerancia a glifosato a partir de mutagénesis del gen *epsps* es el arroz (Zhou *et al.*, 2006).

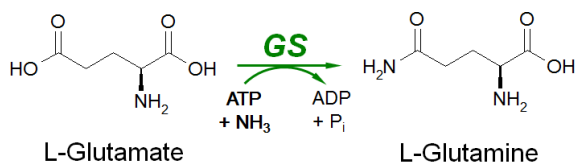
#### **iv. 2. Proteína PAT/*bar***

El algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102 contiene el cassette de expresión *bar* que, cuando se transcribe, origina la proteína PAT de ~21 kDa que consiste de un polipéptido de 183 aminoácidos (Thompson *et al.*, 1987). La secuencia del gen *bar* proviene de *Streptomyces hygroscopicus* y codifica la proteína fosfotricina-N-acetil transferasa (PAT) (Thompson *et al.*, 1987). La presencia de la proteína PAT en el algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 x COT102 confiere tolerancia a glufosinato de amonio.

El herbicida glufosinato es una mezcla racémica de formas D y L de fosfotricina, aunque sólo la forma L (L-fosfotricina) tiene actividad herbicida. Este herbicida es un potente inhibidor de la enzima glutamino sintetasa (GS) tanto en bacterias como en plantas, donde se une competitivamente a la enzima GS desplazando al L-glutamato del sitio activo (OECD, 1999; OECD, 2002a) (Figura 2).

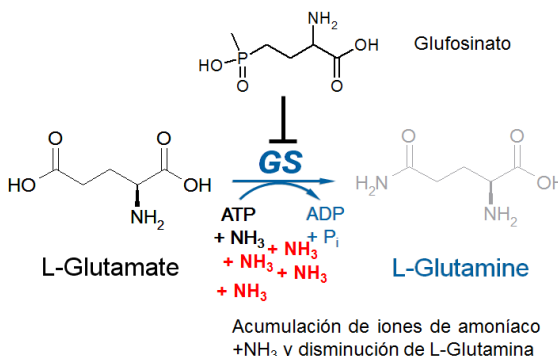
La enzima glutamino sintetasa (GS) es esencial en el metabolismo de nitrógeno en plantas superiores, donde es la única enzima en plantas que puede detoxificar el amoníaco liberado por la reducción de nitrato, degradación de aminoácidos y fotorespiración. El amoníaco, aun siendo un nutriente vegetal es tóxico si se encuentra en exceso y lleva a la muerte de la célula vegetal (OECD, 1999; OECD, 2002a).

a) Asimilación del amoníaco.



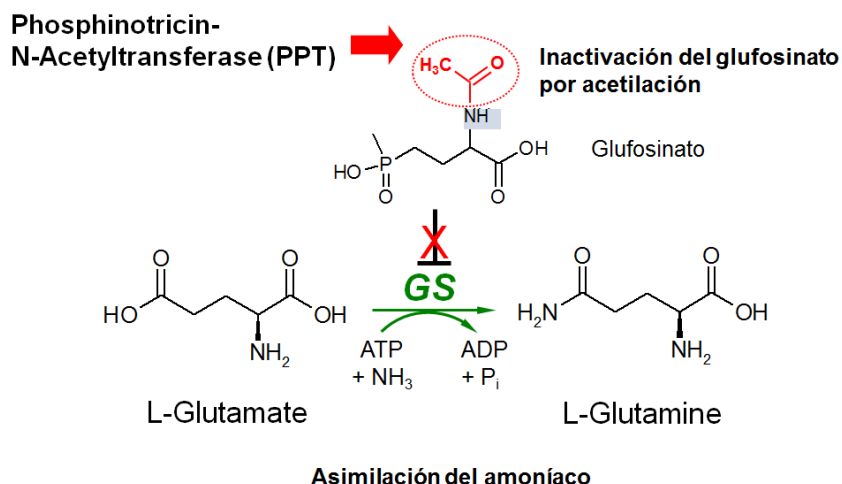
GS: Glutamine synthase

b) Inhibición de la enzima GS.



**Figura 2.** Mecanismo de acción del herbicida glufosinato de amonio

La enzima PAT es una acetiltransferasa que cataliza específicamente la acetilación de L-fosfotricin (L-PPT) y demetilfosfotricin (DMPT) (Thompson *et al.*, 1987). L-PPT y DMPT son inhibidores de la enzima glutamino sintasa (GS). Esta inhibición resulta en la acumulación de iones tóxicos de amoníaco y en una disminución de la cantidad de glutamina, un aminoácido esencial utilizado en muchos procesos anabólicos. El glufosinato de amonio es la sal de amonio de L-PPT. Solamente el L-isómero es un inhibidor de la glutamino sintasa. La enzima PAT expresada por el gen *pat* tiene la capacidad de conferir tolerancia al glufosinato de amonio a las plantas modificadas con este gen. La tolerancia al herbicida es una consecuencia de la acetilación y resultante desactivación de L-PPT en el herbicida glufosinato de amonio.



**Figura 3.** Mecanismo de acción de la proteína PAT que confiere tolerancia al herbicida glufosinato de amonio.

La actividad enzimática de la proteína PAT sigue las cinéticas simples de Michaelis-Menten (Wehrmann *et al.*, 1996). En presencia de acetyl-CoA como co-sustrato, la proteína PAT cataliza la acetilación del grupo amino libre de L-Fosfotricin (L-PPT) a N-acetil glufosinato (N-acetyl-L-PPT), un compuesto que no inactiva la glutamina sintetasa y no tiene actividad herbicida.

La enzima PAT es altamente específica para L-PPT. No acetila a otros L-aminoácidos, incluido el glutamato, que es estructuralmente el más parecido al L-glufosinato, ni al acetilato D-PPT. Un exceso de concentración de L-aminoácidos no afecta a la proteína PAT en su capacidad de acetilar L-PPT.

#### iv. 3. Proteínas Cry1Ab y Cry2Ae

El evento **T304-40** produce la proteína insecticida Cry1Ab de 617 aminoácidos y un peso molecular de 69 kDa, codificada por el gen *cry1Ab* derivado de la bacteria *Bacillus thuringiensis* subsp. *berliner* (*Bt*), esta proteína es efectiva para el control de insectos lepidópteros plaga del algodón como gusano bellotero (*Helicoverpa zea*) y gusano tabacalero (*Heliothis virescens*).

El evento **GHB119** produce la proteína insecticida Cry2Ae de 631 aminoácidos y un peso molecular de 71 kDa, codificada por el gen *cry2Ae* derivado de la bacteria *Bacillus thuringiensis* subsp. *dakota* (*Bt*), esta proteína es efectiva para el control de insectos lepidópteros plaga del algodón como gusano bellotero (*Helicoverpa zea*), gusano tabacalero (*Heliothis virescens*) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*).

El efecto tóxico de las proteínas *Bt* requiere de condiciones alcalinas (como las proporcionadas en el intestino de la larva del insecto) para que se disuelvan los cristales, digestión parcial por proteasas específicas para que liberen el núcleo activo de la toxina y la unión específica de ésta a receptores presentes en la superficie de las células epiteliales del intestino medio del insecto. La unión específica de la toxina a estos receptores conduce a la formación de poros en la membrana plasmática y a la eventual muerte celular, parálisis intestinal e inanición. Estos son los pasos que proporcionan el alto grado de especificidad para cada proteína *Bt* (English & Slatin 1992; Hofmann *et al.*, 1988; Knowles & Dow, 1993; Van Rie *et al.*, 1989).

Las proteínas Cry1 se producen en forma de protoxinas de 130-140 kDa en tamaño, con 1100-1200 residuos de aminoácidos (Aronson and Shai 2001; Kumar *et al.*, 1996; Bravo *et al.*, 2007; OECD, 2007). En el caso de la proteína Cry1A, las protoxinas se dividen para generar toxinas activas que están compuestas por fragmentos de 60-70 kDa de la porción terminal N de la proteína (Knowles, 1994; Kumar *et al.*, 1996; OECD, 2007). El mecanismo de acción insecticida es un proceso complejo en el cual las toxinas activas se adhieren a receptores específicos en la membrana plasmática de las células epiteliales del intestino medio de los insectos susceptibles (Aronson and Shai, 2001; Kumar *et al.*, 1996; Bravo *et al.*, 2007; Bravo *et al.*, 2011; OECD, 2007; Zhang *et al.*, 2006). Una vez unida a los receptores, la toxina puede insertarse en la membrana plasmática mediante la formación de poros oligoméricos transmembrana (Aronson and Shai

2001, Bravo *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 1996; OECD 2007). Dichos poros forman canales iónicos que afectan el potencial transmembrana, lo cual causa lisis osmótica (Aronson and Shai 2001; Bravo *et al.*, 2007; Bravo *et al.*, 2011; Hofte and Whiteley, 1989; Kumar *et al.*, 1996; OECD, 2007).

Para que las proteínas Cry puedan ejercer actividad insecticida tienen que ser ingeridas por los insectos. La proteína en su forma cristalina es insoluble en solución acuosa a pH neutro o ácido (Bulla *et al.*, 1977), sin embargo, el pH del tracto digestivo de las larvas de los insectos es alcalino (pH 8 - 10) y probablemente reductivo, lo que favorece la solubilización del cristal (Tojo and Aizawa, 1983; Ogiwara *et al.*, 1992). Una vez ingerida, la proteína es subsecuentemente activada por proteasas en el tracto digestivo del insecto. Estas proteasas cortan el extremo carboxilo terminal del resto de la proteína (Chroma y Kaplan, 1990), al igual que aproximadamente 28 aminoácidos del extremo amino terminal. La proteína activada, que consiste de aproximadamente 660 aminoácidos, se difunde a través de la membrana peritrófica del insecto al epitelio del mesenterón. Aquí se une a receptores específicos de alta afinidad (Wolfersberger *et al.*, 1986, Hofmann *et al.*, 1988, Van Rie *et al.*, 1989; Van Rie *et al.*, 1990). Se forman poros en la membrana que causa derramamiento de los contenidos celulares (i. e. K<sup>+</sup>) en el lumen del intestino y agua hacia las células epiteliales de intestino (Sacchi *et al.*, 1986; Knowles *et al.*, 1989). Las células epiteliales del tracto de las larvas se hinchan debido a la presión osmótica y se lisan. El tracto se paraliza como consecuencia de los cambios en electrolitos y pH lo que provoca que la larva deje de comer y muera.

El requerimiento de un pH alcalino y proteasas específicas del intestino de las larvas de insectos es una característica importante de la actividad insecticida específica de *Bacillus thuringiensis*, debido a que los mamíferos y otros insectos no blanco no pueden solubilizar los cristales de *Bt*, estos pasan a través del sistema digestivo de los organismos no blanco en su forma inalterada y por lo tanto no tóxica.

#### **4. Productos de degradación de la proteína codificada por el transgen en subproductos**

##### **4.1. Subproductos de degradación de las proteínas**

Con excepción de las proteínas 2mEPSPS (GHB614) y Cry2Ae (GHB119) que están fusionadas a péptidos de tránsito para dirigir dichas proteínas al cloroplasto, no se esperan subproductos de degradación adicionales en el algodón GHB614 x T304-40 x GHB119, ya que cualquier degradación adicional de las proteínas expresadas resultaría en un polipéptido inactivo.

##### **4.2. Proteína 2mEPSPS**

El evento GHB614 produce la proteína 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) codificada por el gen *2mepsps* derivado del maíz (*Zea mays* L.) (Herouet-Guicheney *et al.*, 2009). El gen *2mepsps* consta de 1338 pb y ha sido modificado a través de mutagénesis sitio-dirigida para codificar una enzima insensible a la desactivación por glifosato (Lebrun *et al.*, 1997) pero que no altera su función metabólica en la ruta del shikimato (Hammond *et al.*, 2013).

Para restaurar el sitio de escisión del péptido de tránsito se adicionó el aminoácido metionina en el extremo N-terminal de la secuencia de la proteína 2mEPSPS (De Beuckeleer, 2003), la cual está constituida por 445 aminoácidos y tiene un peso molecular de ~47.5 kDa. La expresión de la proteína 2mEPSPS confiere tolerancia al herbicida glifosato en las plantas de algodón.

Las propiedades bioquímicas de la enzima 2mEPSPS han sido bien caracterizadas en comparación con las proteínas EPSPS silvestres y, con excepción de su insensibilidad al glifosato, el cambio en dos aminoácidos no ha modificado sus propiedades bioquímicas. Los efectos metabólicos derivados de la actividad de la proteína 2mEPSPS en plantas son comparables a los de las proteínas EPSPS endógenas, excepto por su insensibilidad al glifosato (Hammond *et al.*, 2013).

El extremo 5' de la región codificante del gen *2mepsps* en el inserto GHB614 está unido al péptido de tránsito TPotp C, el cual dirige la proteína 2mEPSPS al cloroplasto, sitio donde la proteína es funcionalmente activa. En las plantas, la enzima EPSPS es codificada por un gen nuclear y sintetizada como una pre-proteína (unida al péptido de tránsito) por ribosomas libres en el citoplasma celular; el péptido de tránsito permite el transporte a los cloroplastos. La pre-proteína es transportada al interior del estroma del cloroplasto y es procesada proteolíticamente para producir la enzima madura (Kishore and Shah, 1988; Forlani *et al.*, 1994; Lebrun *et al.*, 1997). Una vez desprendido de la proteína 2mEPSPS, el péptido de transferencia al cloroplasto se degrada rápidamente por proteasas endógenas de la planta (Bartlett *et al.*, 1982; Della-Cioppa *et al.*, 1986).

La proteína EPSPS es la sexta enzima en la ruta metabólica del shikimato para la biosíntesis de compuestos aromáticos presentes en microorganismos y plantas (Tzin & Galili, 2010). Estas enzimas son ubicuas en la naturaleza y están presentes en alimentos derivados de plantas y fuentes microbianas. La proteína 2mEPSPS presenta una alta identidad de secuencia de aminoácidos con la enzima EPSPS nativa del maíz (>99.5%), así como con otras proteínas EPSPS encontradas en cultivos con un largo historial de seguridad para el consumo humano como arroz, vid, lechuga, tomate y colza, o en hongos o fuentes microbianas como la levadura del pan (Rouquié, 2006). Por lo tanto, estas proteínas tienen un largo historial de uso seguro como componentes endógenos de alimentos y forrajes.

**Cuadro 3.** Comparación de la secuencia deducida de aminoácidos de la proteína 2mEPSPS con otras proteínas EPSPS.

	Maíz	Arroz	Vid	Lechuga	Tomate	Colza
Identidad de secuencia (%)	>99.5	86	79	77	75	75

#### 4.3. Proteínas Cry1Ab y Cry2Ae

El extremo 5' de la región codificante del gen *Cry2Ae* en el inserto GHB119 está unido al péptido de tránsito TPssuAt (péptido de tránsito de la subunidad pequeña de la ribulosa 1,5 bifosfato

carboxilasa del gen *at1sA* de *Arabidopsis thaliana*), el cual dirige la proteína Cry2Ae al cloroplasto. El péptido de tránsito es desprendido de la proteína Cry2Ae durante la transferencia de la proteína a través de la membrana del cloroplasto y es degradado por proteasas endógenas de la planta.

Las proteínas Cry1 se producen en forma de protoxinas de 130-140 kDa en tamaño, con 1100-1200 residuos de aminoácidos (Aronson and Shai 2001; Kumar *et al.*, 1996; Bravo *et al.*, 2007; OECD, 2007). En el caso de la proteína Cry1A, las protoxinas se dividen para generar toxinas activas que están compuestas por fragmentos de 60-70 kDa de la porción terminal N de la proteína (Knowles, 1994; Kumar *et al.*, 1996; OECD, 2007). El mecanismo de acción insecticida es un proceso complejo en el cual las toxinas activas se adhieren a receptores específicos en la membrana plasmática de las células epiteliales del intestino medio de los insectos susceptibles (Aronson and Shai, 2001; Kumar *et al.*, 1996; Bravo *et al.*, 2007; Bravo *et al.*, 2011; OECD, 2007; Zhang *et al.*, 2006). Una vez unida a los receptores, la toxina puede insertarse en la membrana plasmática mediante la formación de poros oligoméricos transmembrana (Aronson and Shai 2001, Bravo *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 1996; OECD 2007). Dichos poros forman canales iónicos que afectan el potencial transmembrana, lo cual causa lisis osmótica (Aronson and Shai 2001; Bravo *et al.*, 2007; Bravo *et al.*, 2011; Hofte and Whiteley, 1989; Kumar *et al.*, 1996; OECD, 2007).

Para que las proteínas Cry puedan ejercer actividad insecticida tienen que ser ingeridas por los insectos. La proteína en su forma cristalina es insoluble en solución acuosa a pH neutro o ácido (Bulla *et al.*, 1977), sin embargo, el pH del tracto digestivo de las larvas de los insectos es alcalino (pH 8 - 10) y probablemente reductivo, lo que favorece la solubilización del cristal (Tojo and Aizawa, 1983; Ogiwara *et al.*, 1992). Una vez ingerida, la proteína es subsecuentemente activada por proteasas en el tracto digestivo del insecto. Estas proteasas cortan el extremo carboxilo terminal del resto de la proteína (Chroma y Kaplan, 1990), al igual que aproximadamente 28 aminoácidos del extremo amino terminal. La proteína activada, que consiste de aproximadamente 660 aminoácidos, se difunde a través de la membrana peritrófica del insecto al epitelio del mesenterón. Aquí se une a receptores específicos de alta afinidad (Wolfersberger *et al.*, 1986, Hofmann *et al.*, 1988, Van Rie *et al.*, 1989; Van Rie *et al.*, 1990). Se forman poros en la membrana que causa derramamiento de los contenidos celulares (i. e. K<sup>+</sup>) en el lumen del intestino y agua hacia las células epiteliales de intestino (Sacchi *et al.*, 1986; Knowles *et al.*, 1989). Las células epiteliales del tracto de las larvas se hinchan debido a la presión osmótica y se lisan. El tracto se paraliza como consecuencia de los cambios en electrolitos y pH lo que provoca que la larva deje de comer y muera.

El requerimiento de un pH alcalino y proteasas específicas del intestino de las larvas de insectos es una característica importante de la actividad insecticida específica de *Bacillus thuringiensis*, debido a que los mamíferos y otros insectos no blanco no pueden solubilizar los cristales de *Bt*, éstos pasan a través del sistema digestivo de los organismos no blanco en su forma inalterada y por lo tanto no tóxica.



La expresión de las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae está regulada por promotores constitutivos (Ps7s7 y P35S2) y se expresan en los tejidos de la planta de algodón GLT durante todo el ciclo del cultivo. Como consecuencia de lo anterior, los residuos de plantas post-cosecha de este cultivo pueden contener pequeñas cantidades de las proteínas con actividad insecticida. Después de la cosecha, partes de las plantas tales como los tallos, restos de hoja y bellotas no cosechadas son incorporarlos al suelo a fin de promover su descomposición. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA) llevó a cabo una evaluación ambiental de las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae, no encontrando impactos significativos (EPA, 2012<sup>1</sup>). Se ha observado que los cristales de las proteínas *Bt* se degradan rápidamente en el campo debido al efecto de la radiación solar y de la temperatura (USDA, 1999).

Los organismos del suelo podrían estar expuestos a las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae a través del contacto con las raíces del algodón (alimentación directa), exudados de las raíces, incorporación de residuos de la planta en el suelo después de la cosecha, o por polen depositado en el suelo. Estudios para evaluar la presencia de las proteínas Cry en exudados de la raíz de algodón *Bt*, mediante ensayos inmunológicos y de eficacia, indicaron que no se detectó proteína Cry en suelo o solución hidropónica en donde se había cultivado algodón *Bt* (Saxena & Stotzky, 2001<sup>2</sup>). La evidencia existente indica que las proteínas Cry no se acumulan en el suelo a niveles tóxicos para los artrópodos. Debido a que las proteínas Cry se derivan de una bacteria que es un habitante natural del suelo (*Bacillus thuringiensis*) y además se encuentra en insecticidas microbiales comerciales (De Maagd et al., 2003<sup>3</sup>), se espera que la degradación de las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae expresadas por los eventos T304-40 y GHB119, sea similar a la degradación de esas mismas proteínas producidas de manera natural por las bacterias del suelo.

Los estudios de degradación en suelo bajo condiciones aeróbicas se realizaron en suelo con diferentes texturas provenientes de tres localidades donde se ha cultivado algodón *Bt* (Proctor, AR: franco arcilloso; Senatobia, MS: franco limoso; East Bernard, TX: franco arcillo arenoso). Para determinar la DT<sub>50</sub> (tiempo para que se disipe el 50% de la concentración inicial del material bioactivo) se utilizó uno de los insectos blanco más susceptibles a las proteínas Cry (*Heliothis virescens*). Los suelos fueron tratados de forma separada con 15 µg/g de proteína Cry1Ab y 50 µg/g de proteína Cry2Ae y se tomaron muestras regularmente durante un periodo de 45 días. Para los bioensayos las larvas de *H. virescens* fueron expuestas a muestras de suelo incorporadas en la dieta. Simultáneamente, se realizó un estudio de dosis-respuesta durante seis días con larvas de *H. virescens* expuestas a dosis de 0.004 a 0.28 µg/g para la proteína

<sup>1</sup> US EPA. 2012. Biopesticides registration action document. Plant-incorporated protectants: *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab protein and the Genetic Material Necessary for its Production in Event T304-40 Cotton [PC Code 006525, OECD Unique Identifier: BCS-GHØØ4-7]; *Bacillus thuringiensis* Cry2Ae protein and the Genetic Material Necessary for its Production in Event GHB119 Cotton [PC Code 006600, OECD Unique Identifier: BCS-GHØØ5-8]; and TwinLink™ Cotton (T304-40 and GHB119 Combination PIP product) [OECD Unique Identifier: BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8]. U.S. Environmental Protection Agency.

<sup>2</sup> Saxena, D. and Stotzky, G. 2001. *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) toxin released from root exudates and biomass of *Bt* corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biol. Biochem.* 33: 1225–1230.

<sup>3</sup> De Maagd, R.A.; Bravo, A.; Berry, C.; Crickmore, N.; Schnepf, H.E. 2003. Structure, diversity and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria. *Annual Review of Genetics* 37:409–433.

Cry1Ab y de 0.056 a 3.4 µg/g para la proteína Cry2Ae, para obtener la curva estándar dosis-respuesta y determinar la degradación de las proteínas a través del tiempo con base en el bioensayo. La DT<sub>50</sub> se determinó a partir de la curva de regresión exponencial de primer orden y se obtuvieron valores promedio para los tres tipos de suelo de 3.6 días para Cry1Ab y 3.4 días para Cry2Ae. Adicionalmente, las muestras de suelo fueron analizadas mediante ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) para determinar el contenido de proteínas Cry y los resultados mostraron la continua degradación de las proteínas en el suelo durante el estudio.

#### **4.4. Proteína PAT/*bar***

El algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 contiene el cassette de expresión *bar* que, cuando se transcribe, origina la proteína PAT de ~21 kDa que consiste de un polipéptido de 183 aminoácidos (Thompson *et al.*, 1987). La secuencia del gen *bar* proviene de *Streptomyces hygroscopicus* y codifica la proteína fosfotricina-N-acetil transferasa (PAT) (Thompson *et al.*, 1987). La presencia de la proteína PAT en el algodón GHB614 x T304-40 x GHB119 confiere tolerancia a glufosinato de amonio.

La enzima PAT es una acetiltransferasa que cataliza específicamente la acetilación de L-fosfotricina (L-PPT) y demetilfosfotricina (DMPT) (Thompson *et al.*, 1987). L-PPT y DMPT son inhibidores de la enzima glutamino sintasa (GS). Esta inhibición resulta en la acumulación de iones tóxicos de amoníaco y en una disminución de la cantidad de glutamina, un aminoácido esencial utilizado en muchos procesos anabólicos. El glufosinato de amonio es la sal de amonio de L-PPT. Solamente el L-isómero es un inhibidor de la glutamino sintasa. La enzima PAT expresada por el gen *bar* tiene la capacidad de conferir tolerancia al glufosinato de amonio a las plantas modificadas con este gen. La tolerancia al herbicida es una consecuencia de la acetilación y resultante desactivación de L-PPT en el herbicida glufosinato de amonio. La proteína PAT/*bar* acetila el grupo amino libre de L-PPT para producir N-acetil glufosinato sin actividad herbicida. El glufosinato acetilado no es capaz de unirse a la glutamino sintetasa y, por lo tanto, no interrumpe la fotorespiración y evita la acumulación de amoníaco.

La proteína PAT/*bar* tiene gran especificidad de sustrato por la L-PPT, el componente herbicida del glufosinato de amonio, y es poco probable que afecte el sistema metabólico del algodón GLT. Se han evaluado muchos productos con tolerancia al glufosinato incluyendo algodón, maíz, soya, canola, remolacha y arroz sin identificar factores que causen alguna preocupación de seguridad ([www.isaaa.org](http://www.isaaa.org)).

#### **v. Cambios en la capacidad competitiva del OGM en comparación con la contraparte no modificada, incluyendo supervivencia y reproducción, producción de estructuras reproductoras, periodos de latencia y duración del ciclo de vida**

El evento apilado GHB614 x T304-40 x GHB119 (GlyToI® TwinLink®), porta los genes *cry1Ab* y *cry2Ae*, los cuales le proporcionan resistencia contra el ataque de insectos lepidópteros y los

genes *bar* y *2mepsps* los cuales le confieren tolerancia a la aplicación de los herbicidas glufosinato de amonio y glifosato, respectivamente.

Durante los años 2015 y 2017 se realizaron evaluaciones de equivalencia agronómica y fenotípica en la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora. Los resultados mostraron que las variedades con tecnología GLT se comportaron de manera equivalente con respecto a la variedad convencional FM 989 utilizada como comparador. Así mismo, en ninguna de las evaluaciones se observó alguna tendencia que indicara un incremento en la capacidad competitiva del algodón GLT, que originara un incremento de su potencial como maleza y que representara un riesgo a la Sanidad vegetal o al Medio ambiente.

**vi. Posibles efectos al ambiente y a la diversidad biológica por la liberación del OGM, incluyendo, el protocolo utilizado para establecer estos posibles efectos**

De manera reciente se han publicado varios estudios sobre los beneficios, tanto económicos como ambientales, de los organismos genéticamente modificados (OGM), un ejemplo de ello fue el realizado por Mahafey y colaboradores (2016), en el cual, evaluaron dichos beneficios. El estudio se centra bajo la suposición de dos escenarios; en el primero cuestionaron qué sería diferente si no hubiera tecnología genéticamente modificada (GM) y, en el segundo, cuál sería el impacto si la adopción de OGM globalmente alcanzara a la adopción que se tiene en los Estados Unidos. Los resultados del primer escenario arrojaron que, en cuanto a las emisiones por el uso de suelo, habría aproximadamente 0.9 billones de toneladas de CO<sub>2</sub> que equivalen a más emisiones de gases de efecto invernadero de las que hay en la actualidad. Para el segundo escenario se encontró que, si existiera una mayor penetración de la tecnología GM, se tendrían menores emisiones de gases de efecto invernadero que equivaldrían a una reducción de 0.2 billones de toneladas de CO<sub>2</sub>.

Brookes y Barfoot (2016) describen que desde la introducción de los cultivos GM hasta el 2014, el uso de ingredientes activos cayó un 7.3 % (23.1 millones de kg) y el impacto ambiental asociado a ello, disminuyó en un 9.9 %. Para el caso del algodón resistente a insectos, utilizar ingredientes activos insecticidas ha disminuido en un 27.9 % (249.1 millones de kg) y el impacto ambiental por el uso de insecticidas aplicados al cultivo de algodón ha caído por un 30.4 %.

En México (Rocha-Munive *et al.*, 2018) realizaron un análisis de los datos disponibles desde la liberación de algodón GM en 1996 y establecieron dos hipótesis: la primera fue si existe un riesgo potencial de flujo génico a especies nativas, mientras que la segunda fue si el uso de algodón GM en México resultaría en una reducción del uso de plaguicidas y mayor rendimiento. Con base en el análisis de la información concluyeron y recomendaron lo siguiente: 1) debido a la distribución y composición cromosómica del algodón, se espera que haya un bajo riesgo de introgresión o mezcla con otras especies diploides silvestres de México por el flujo de polen; 2) hasta ahora no se han reportado casos de resistencia a malezas para glifosato asociado con algodón en México (Heap, 2018). Sin embargo, se recomienda enfáticamente fomentar el uso de

prácticas de manejo apropiadas y herbicidas alternativos con diferentes mecanismos de acción (Devine et al., 1992); 3) el impacto del algodón Bt en el uso de insecticidas químicos ha sido significativo. Desde su introducción hace 20 años, ha habido una disminución en su uso; 4) los insecticidas químicos que son utilizados actualmente para controlar el complejo de plagas tienen en promedio menor impacto ambiental que los usados hace un par de décadas.

La estabilidad de la modificación genética contenida en el algodón TwinLink® se ha estudiado en al menos cinco generaciones y no se ha observado pérdida del fenotipo de tolerancia a glufosinato de amonio o rearrreglo de los elementos genéticos transferidos. Similarmente, el algodón GlyTol® ha sido probado en campo en los Estados Unidos de América y se ha concluido que exhibe equivalencia agronómica con su contraparte no modificada. Por su parte, la Canadian Food Inspection Agency (CFIA) ha determinado que el algodón GlyTol® no muestra ninguna característica adicional y es sustancialmente equivalente al algodón convencional, en términos de su uso específico y seguridad para el ambiente y para la salud humana y animal.

Durante las liberaciones experimentales se realizaron diferentes evaluaciones y actividades con el objetivo de analizar los posibles efectos al ambiente y a la diversidad biológica debidos a la liberación de algodón GLT en la región agrícola del Valle de Mexicali.

### **Efectos sobre organismos no blanco de la tecnología GLT**

El tejido de algodón (de plantas GM y convencionales) particularmente las semillas, puede ser tóxico a mamíferos si es ingerido en altas cantidades, debido a la presencia de factores tóxicos y anti nutricionales, incluyendo al gossypol y ácidos grasos ciclopropenoides (ej., dihidrosterculico, esterculico, malvático). Los resultados han demostrado que los niveles de estos compuestos son similares en materiales GM con respecto a su contraparte convencional.

Generalmente los mamíferos evitan alimentarse de plantas de algodón. La presencia de gossypol y de ácidos grasos ciclopropenoides en la semilla de algodón limita el uso de la semilla completa como un suplemento proteico en la alimentación animal, excepto para el ganado que resulta menos afectado por dichos componentes.

Los valores de toxicidad de las proteínas PAT y 2mEPSPS indican que presentan una toxicidad extremadamente baja para vertebrados. Además de esto y, dado que estas proteínas se encuentran en forma natural en el ambiente, no se espera que las mismas sean una fuente novedosa de daño o riesgo para estos organismos. Aunque algunas aves podrían estar expuestas en los campos de algodón a las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae, los estudios indican que estas proteínas no son intrínsecamente tóxicas para dichas aves o mamíferos. Adicionalmente, el riesgo de exposición de los organismos acuáticos es extremadamente bajo.

Se han efectuado evaluaciones de riesgo para las especies no blanco en el algodón TwinLink® y en las proteínas Cry1Ab y Cry2Ae que éste produce. Cada evaluación incluyó: identificación del peligro, exposición, prueba de especies potencialmente expuestas y, de ser necesario, una

evaluación de dosis-respuesta para las especies afectadas. El modo de acción de las proteínas Cry en los organismos blanco es entendido muy bien y es mediado por medio de la unión de las proteínas en el intestino, lo cual tiene mucha variabilidad interespecífica. Existe mucha información detallada acerca de la especificidad de las proteínas Cry para un rango muy restringido de especies de insectos. El espectro de acción de las proteínas Cry1Ab y Cr2Ab incluye sólo insectos lepidópteros y no existe evidencia de toxicidad para otros organismos no blanco.

Las rutas principales de exposición para los organismos no blancos son:

- Alimentación por insectos herbívoros u otros animales
- Depredación de insectos que se han alimentado del algodón *Bt*
- Consumo de semillas de algodón (pájaros, mamíferos)
- Transferencia de polen
- Caída de hojas
- Incorporación de plantas senescentes por medio del barbecho.

Los insectos son los organismos que más probablemente tendrán exposición significativa al algodón TwinLink® ya sea por alimentación directa de las plantas o polen, o por la alimentación de otros insectos, los cuales se han alimentado de las plantas de algodón. Las proteínas Cry han sido estudiadas extensivamente por muchos años en muchas especies de insectos. BASF generó datos adicionales sobre los efectos del algodón TwinLink® en especies de insectos representativos de los insectos encontrados en las plantas de algodón. No se observaron efectos en el insecto depredador *Coleomegilla maculata* (catarinita) o en abejas, las cuales pudieron haber estado expuestas a las plantas de algodón TwinLink®.

Existe también la posibilidad de exposición de organismos habitantes del suelo al material vegetativo. Esta exposición será muy limitada puesto que las proteínas Cry tienen una vida muy corta en el suelo, de aproximadamente tres días. Ambas proteínas fueron también probadas en contra de *Folsomia candida* (Colembolla) debido a que estos organismos juegan un papel importante en la descomposición del material vegetal en el suelo. Ninguna de las dos proteínas tuvo un efecto significativo en esta especie de colémbolo a concentraciones ambientales relevantes. Un estudio adicional usando tejido de las hojas del algodón TwinLink® también indicó que no hubo un efecto significativo. Datos generados previamente indicaron que la proteína Cry1Ab posee un riesgo mínimo para las lombrices del suelo. Así mismo, datos generados por BASF confirman que la proteína Cry2Ae también posee un riesgo mínimo para estos organismos.

En los años 2015 y 2017 se realizaron muestreos en algodón GLT y convencional en diferentes sitios del Valle de Mexicali en diversas fechas de muestreo, mediante el uso de red entomológica, trampas de caída, trampas amarillas pegajosas y de manera directa revisando fructificaciones y hojas. Como resultado de estos, se capturaron y contabilizaron una gran cantidad de organismos no blanco asociados al cultivo del algodón.

Con base en los resultados obtenidos de los monitoreos de organismos no blanco asociados al cultivo de algodón en el Valle de Mexicali durante 2015 y 2017, se observó que las poblaciones de insectos plaga no blanco, depredadores y parasitoides se comportaron de manera similar, tanto en el algodón GLT como en el algodón convencional. Así mismo, no se observó una preferencia hacia alguno de los tratamientos y tampoco una influencia o impacto negativo relacionado con el uso del algodón GLT.

La información anterior contribuye a demostrar la especificidad de la tecnología para el control de algunos lepidópteros blanco y a descartar los posibles efectos sobre la artropofauna del cultivo de algodón. De igual manera, con los resultados obtenidos se puede concluir que la liberación comercial del algodón GLT no representará un riesgo mayor a los organismos no blanco que el relacionado directamente con la siembra de algodón convencional.

#### Efectividad sobre organismos blanco.

El algodón GlyTol® TwinLink® contiene los genes *cry1Ab* de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* y *cry2Ae* de *Bacillus thuringiensis* subsp. *dakota* que le confieren resistencia específica al ataque de ciertos insectos lepidópteros como gusano rosado (*Pectinophora gossypiella* Saunders) y gusano tabacalero (*Heliothis virescens* Fabricius). El algodón GlyTol® TwinLink® puede requerir aplicaciones complementarias de insecticidas para el control de insectos difíciles como gusano bellotero (*Helicoverpa zea* Boddie), gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) y gusano soldado (*Spodoptera exigua* Hubner), por lo tanto, se debe mantener un monitoreo constante de plagas en el cultivo.

Las especies de lepidópteros detectadas durante las evaluaciones del algodón GLT se presentan en el cuadro 4.

**Cuadro 4.** Lepidópteros blanco de la tecnología GLT presentes en las evaluaciones del Valle de Mexicali.

Año	Región	Especies presentes
2015	Valle de Mexicali	<i>Spodoptera exigua</i>
2017	Valle de Mexicali	<i>Helicoverpa zea</i>

Durante las evaluaciones realizadas en ambos años, las poblaciones de plagas blanco han sido muy bajas en ambos tipos de algodón, de igual manera, la tendencia observada ha sido mayor presencia y daños en el algodón convencional usado como comparador, lo cual es una prueba de la efectividad de la tecnología GLT bajo las condiciones actuales del Valle de Mexicali.

Uno de los efectos derivados de la amplia adopción y penetración del algodón Bt en las zonas algodonerías, ha sido la reducción en las poblaciones de plagas blanco, principalmente gusano tabacalero (*Heliothis virescens*) y gusano rosado (*Pectinophora gossypiella*) que son altamente susceptibles a las proteínas expresadas por estos cultivos.

Históricamente *Helicoverpa zea* y *Heliothis virescens* (complejo bellotero) fueron dos de las principales plagas de importancia económica en el cultivo en la región, que debido al monocultivo incrementaron sus poblaciones hasta límites en que el control químico resultó excesivo, caro e ineficiente y que combinado con otros factores como la diseminación de la enfermedad conocida como “pudrición texana” y el uso cada vez mayor de fibras sintéticas, provocaron un cambio en los sistemas de producción obligando a los productores a dedicarse a otros cultivos de menor rentabilidad como soya, maíz y sorgo (Loera *et al.*, 2015).

En años recientes han ocurrido cambios significativos en el sistema algodón, debido a tres importantes factores: el desarrollo de variedades de algodón transgénico, los programas de erradicación del picudo, y nuevos insecticidas más selectivos y específicos para una plaga determinada (Loera *et al.*, 2015).

Una de las principales razones de la disminución en las poblaciones de estos lepidópteros se debe a la introducción del algodón genéticamente modificado con resistencia a lepidópteros que expresa las proteínas Cry1Ac y Cry2Ab de *Bacillus thuringiensis*. Debido a su gran adopción por parte de los agricultores y a su excelente efectividad en el control de los lepidópteros blanco ha sido posible lograr el efecto antes mencionado. Tanto los agricultores como el personal técnico especializado en algodón de la zona mencionan que antes de la introducción de las variedades transgénicas se presentaban daños por gusano bellotero y tabacalero. En el caso de gusano rosado no se han tenido problemas.

Otro punto clave que ha contribuido enormemente, ha sido la implementación de varias prácticas en toda la región aldonera de Baja California y Norte de Sonora, como son: Respetar fechas de siembra, eliminación de los residuos de cosecha, monitoreos, uso de insecticidas en caso de ser necesarios, trampeos, etc.

La implementación de campañas por parte del gobierno también ha sido un factor crucial. Las principales son:

- a) **Campaña contra plagas reglamentadas del aldonero** (sustentada en la NOM-026-FITO-1995) que opera en los estados de Baja California, Chihuahua, Coahuila, Durango, Sonora y Tamaulipas, en donde se realizan acciones de exploración (mapeo), muestreo, trampeo y control cultural, control etológico, control autocida y control químico, así como actividades de capacitación, divulgación y supervisión. Entre los impactos que ha tenido, se encuentra la supresión del gusano rosado en el estado de Chihuahua y la disminución de las poblaciones en las demás regiones. De acuerdo a esta campaña, se ha declarado como zona libre de gusano rosado a los estados de Baja California y Sonora (DOF, 2016).
- b) **Programa binacional de supresión/erradicación del gusano rosado y picudo del aldonero** entre el SENASICA y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos en el que se realizan acciones de exploración (mapeo), trampeo, control cultural, control etológico (Amarre de la feromona PB Rope) y la técnica del insecto estéril.

## Efectividad sobre la maleza

En el Valle de Mexicali se han identificado 27 especies de malas hierbas con mayor o menor grado de infestación en los campos algodoneiros. Las de mayor frecuencia son el zacate salado, zacate de agua o pinto, enredadera o trompillo, zacate grama, quelite o bleado, coquillo, tomatillo, correhuella y zacate Johnson; éstos compiten con el cultivo durante todo el ciclo por agua, luz, nutrientes y espacio, y si no se controlan pueden reducir la producción de algodón en hueso hasta 50%, además de dificultar la pizca (cuadro 5).

**Cuadro 5.** Principales especies de maleza presentes en el cultivo de algodón en Mexicali y el Norte de Sonora.

Nombre común	Nombre científico	Familia
Zacate salado	<i>Distichlis spicata</i> (L.) Greene	Poaceae
Zacate de agua o pinto	<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link	Poaceae
Enredadera o trompillo	<i>Ipomoea cordatotriloba</i>	Convolvulaceae
Zacate grama	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers	Poaceae
Quelite o bleado	<i>Amaranthus hybridus</i> L.	Amaranthaceae
Coquillo	<i>Cyperus esculentus</i> L.	Cyperaceae
Tomatillo	<i>Physalis philadelphica</i> Lam.	Solanaceae
Correhuella	<i>Convolvulus arvensis</i> L.	Convolvulaceae
Zacate Johnson	<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers	Poaceae

**Fuente:** Herrera, A.J.L, Guzmán, R. S., Loza, V. E. 2010. Guía para producir algodón en el Valle de Mexicali, B.C., y San Luis Río Colorado. Campo Experimental Valle de Mexicali, INIFAP, Centro de Investigación Regional del Noroeste; INIFAP. 2010. Guía técnica para el área de influencia del Campo Experimental Valle de Mexicali. Centro de Investigación Regional del Noroeste. SAGARPA. 2015. Agenda Técnica agrícola de Baja California. Paquete tecnológico Algodón.

En los sitios de liberación en 2015 y 2017 se presentaron 4 especies de las indicadas en el cuadro 5, las cuales fueron: zacate chino *Cynodon dactylon* (L) Pers., zacate pinto *Echinochloa colona* (L.) Link, Correhuella *Convolvulus arvensis* L. y campanilla *Ipomoea cordatotriloba* Denst. Adicionalmente, también se presentaron otras trece especies que no aparecen en la lista, pero que, al encontrarse espacial y temporalmente asociadas al cultivo del algodón, se pueden considerar como representativas de las regiones agrícolas de Baja California y Norte de Sonora.

Es importante aclarar que no todas las especies de la región aparecen de manera constante año con año, si no que sus poblaciones varían de acuerdo con el sitio específico donde se realiza la liberación, biología de la propia especie, factores ambientales y manejo de la maleza.

Con respecto al control de las especies de maleza, durante los años de evaluación (2015 y 2017), los herbicidas glifosato y glufosinato de amonio tuvieron un control de efectivo a excelente de las mismas.



## Fitotoxicidad

Durante las evaluaciones realizadas, en ninguno de los casos se observaron daños por fitotoxicidad en el algodón GlyToI® TwinLink® debidos a la aplicación de los herbicidas glifosato y glufosinato de amonio, con lo cual se confirmó su tolerancia a dichos herbicidas.

Posterior a la aplicación de los herbicidas, los investigadores realizaron la evaluación visual de la fitotoxicidad mediante la escala de la EWRS (European Weed Research Society, cuadro 6). Debido a que no se detectaron daños como necrosis o deformaciones, los investigadores solamente indicaron que no se presentaron daños fitotóxicos al cultivo por la aplicación de los herbicidas. El valor escalar se consideró como 1 que significa “sin efecto sobre el cultivo”, por lo que el % de fitotoxicidad fue de 0.0 a 0.1.

**Cuadro 6.** Escala propuesta por la EWRS (European Weed Research Society) para evaluar el control de malezas y la fitotóxicidad al cultivo y su interpretación agronómica porcentual.

Valor	Efecto sobre la maleza	Efecto sobre el cultivo
1	Muerte completa	Sin efecto
2	Muy buen control	Síntomas muy ligeros
3	Buen control	Síntomas ligeros
4	Suficiente en la práctica	Síntomas que no se reflejan en el rendimiento
5	Control medio	Daño medio
6	Regular	Daños elevados
7	Pobre	Daños muy elevados
8	Muy pobre control	Daños severos
9	Sin efecto	Muerte completa
Transformación de la escala puntual logarítmica de la EWRS a la escala porcentual		
Valor puntual	% de control de maleza	% de fitotoxicidad al cultivo
1	99.0 – 100.0	0.0 – 1.0
2	96.5 – 99.0	1.0 – 3.5
3	93.0 – 96.5	3.5 – 7.0
4	87.5 – 93.0	7.0 – 12.5
5	80.0 – 87.5	12.5 – 20.0
6	70.0 – 80.0	20.0 – 30.0
7	50.0 – 70.0	30.0 – 50.0
8	1.0 – 50.0	50.0 – 99.0
9	0.0 – 1.0	99.0 – 100.0

\*\_\_\_\_\_. 1992. Manual for field trials in plant protection. Third edition. Revised and enlarged. CIBA-GEIGY. Plant protection. Printed in Switzerland. Pág. 240 – 241.

### vii. Efectos de las prácticas de uso y aprovechamiento

Según el ISAAA en su publicación “Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016”, desde 1996, los productores de algodón biotecnológico de Chihuahua han ahorrado un 30 por ciento en sus costos de producción, debido a la reducción de las aplicaciones de plaguicidas de 18 a una por temporada en el cultivo de algodón. Al mismo tiempo, el uso de semillas genéticamente modificadas aumentó los rendimientos de 3,7 a 7,7 pacas de algodón por

hectárea. En México, las estimaciones totales de producción y cosecha de algodón en 2015/16 fueron de 0,9 millones de pacas en una superficie cosechada de 130,000 hectáreas (SADER, 2016). Según el SIAP el 95 por ciento de la superficie total plantada fue algodón biotecnológico. Se estima que México ha mejorado los ingresos agrícolas del algodón y soya biotecnológico en 489 millones de dólares en el período de 1996 a 2015, y los beneficios solo para 2015 se estiman en 77 millones de dólares.

El algodón biotecnológico ha sido ampliamente adoptado en el mundo desde su introducción comercial en Estados Unidos en 1996. Clive (2016), reporta que en 2016 el algodón biotecnológico alcanzó una superficie total de 0.3 billones de hectáreas sembrada en países como India, Estados Unidos, China, Pakistan y Brasil. México ha sembrado cultivos biotecnológicos desde 1996, y es uno de los seis países pioneros en la adopción y siembra de biotecnología. En 2016, México plantó 101,000 hectáreas de cultivos biotecnológicos, las cuales se distribuyeron en 97.000 hectáreas de algodón biotecnológico y 4.000 hectáreas de soya biotecnológica (cuadro 7).

**Cuadro 7. Superficie de cultivos biotecnológicos en México, 2017.**

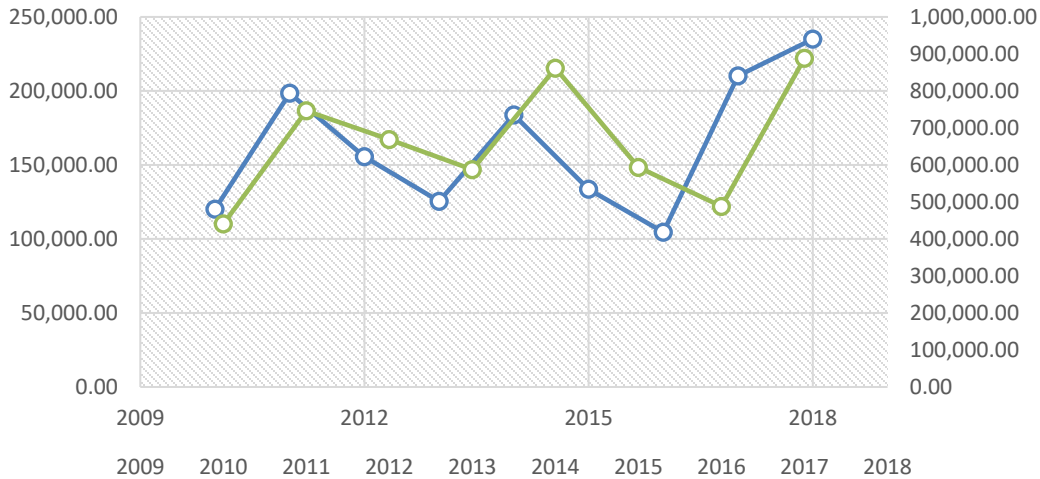
Cultivo	Área (millones de ha)		
	2015	2016	2017
<b>Soya</b>			
Total de cultivo sembrado	0.188	0.211	
HT	0.018	0.004	
Total de cultivo biotecnológico sembrado	0.18	0.004	
<b>Algodón</b>			
<b>Total de cultivo sembrado</b>	0.128	0.099	0.110
<b>HT</b>	0.005	0.004	0.004
<b>IR/HT</b>	0.118	0.093	0.106
Total de cultivo biotecnológico sembrado	0.123	0.097	0.110
<b>Total México</b>			
Total de cultivo sembrado	0.316	0.310	
HT	0.023	0.008	
IR/HT	0.118	0.093	
Total de cultivo biotecnológico sembrado	0.141	0.101	

HT: Tolerante a herbicida

IR: Resistente a insectos

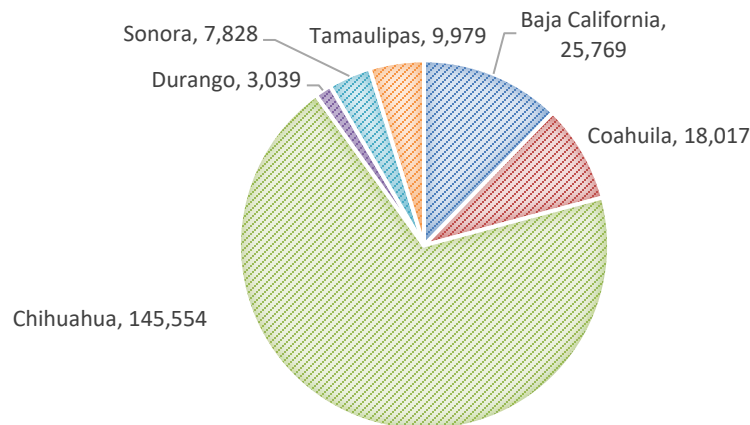
Fuente: ISAAA, 2016

El algodón es el cultivo biotecnológico más importante que se cultiva en México. De las 97,000 hectáreas de algodón biotecnológico, 93.000 hectáreas corresponden a tecnología tolerante a herbicidas en apilado con resistencia al ataque de insectos lepidópteros y 4.000 hectáreas son solamente de tolerancia al uso de herbicidas (ISAAA, 2016). Sin embargo, la producción ha tenido una tendencia variable influida por el decremento en el precio internacional del producto y la disminución de las exportaciones en 2002. Así como la reducción de la superficie sembrada de 2006-2009 y el incremento de superficie y rendimiento en 2010 (figura 4).



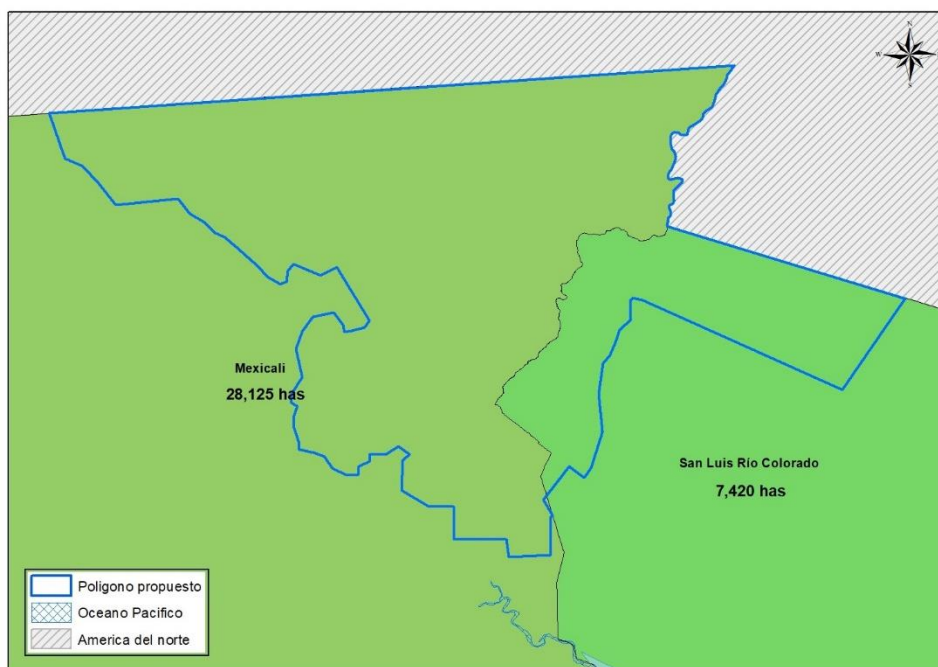
**Figura 4.** Producción nacional de algodón durante el periodo 2010 - 2018 (SIAP, 2018<sup>4</sup>).

Actualmente se han mejorado los niveles de rentabilidad y competitividad del sector algodonero en la fase de la producción primaria y por ende a lo largo de toda la cadena productiva, mediante el uso de algodón genéticamente modificado, siembra en alta densidad por surcos estrechos y equipo para riego (figuras 5 y 6). A pesar de lo anterior, la producción nacional no satisface la demanda de algodón de las industrias textiles por lo que se depende altamente de las importaciones para cubrirla.



**Figura 5.** Producción nacional de algodón hueso en 2017 (SIAP, 2018).

<sup>4</sup> [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do)



**Figura 6.** Producción de algodón hueso en Mexicali, Baja California y San Luis Río Colorado, Sonora, en 2017 (SIAP, 2019).

Como se mencionó previamente, el algodón genéticamente modificado ha traído beneficios económicos y ambientales en las regiones en donde se ha utilizado. En México, de las 110,018.54 hectáreas de algodón biotecnológico, 681.04 hectáreas (3%) corresponden a tecnología tolerante a herbicidas y 106,337.5 hectáreas (97%) en apilado con resistencia al ataque de insectos lepidópteros (ISAAA, 2017). De acuerdo con cifras del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2017), durante el ciclo 2016 se sembró un total de 104,586.69 ha de algodón, destacando los Estados de Chihuahua y Baja California.

Durante este periodo de 20 años y en la superficie sembrada a nivel global, no se tiene evidencia de efectos o variaciones en las prácticas de uso y aprovechamiento del cultivo con relación al algodón convencional. En México el 3 de febrero de 2016, el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimetaria (SENASICA) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) otorgó el reconocimiento oficial al estado de Baja California y Sonora por alcanzar el estatus de "Zona libre de gusano rosado" en algodón; esto mediante acciones de control de estas plagas que incluyen el manejo integrado de plagas y las semillas biotecnológicas. Como resultado, el 85 por ciento de la zona productora de algodón de México está libre de gusanos rosados.

El principal producto del cultivo del algodón una vez despepitado es la fibra, la cual es destinada a la industria textil para la elaboración de hilo y prendas de vestir. La semilla despepitada queda recubierta por una pubescencia llamada linter, la cual puede ser comercializada para consumo animal como complemento alimenticio por su alto contenido energético, o bien, cuando es

separado el linter de la semilla, es utilizado en la elaboración de colchones, almohada, etc. De la semilla de algodón se extrae aceite comestible utilizado principalmente para el procesamiento de alimentos a nivel industrial como papas fritas, o mediante su hidrogenación para la producción de margarinas.

Con relación al manejo agronómico, la adopción de algodón biotecnológico ha contribuido a la adopción de mejores prácticas agrícolas que han redundado en importantes beneficios económicos y ambientales (Brookes y Barfoot, 2017) tales como los siguientes:

- Reducción significativa en el uso de insecticidas y menor impacto en las poblaciones de insectos benéficos y otros organismos no blanco.
- Disminución de la presión de selección de insectos resistentes a los insecticidas químicos.
- Mayor flexibilidad en el control de maleza comparado con el uso de herbicidas en el algodón convencional y eliminación de labores de control manual y aplicaciones tempranas dirigidas de herbicidas que requieren equipo especial para su aplicación.
- Compatibilidad con prácticas de manejo integrado de plagas (MIP) y maleza.
- Menor emisión de gases de efecto invernadero ya que se usan menos combustibles necesarios para la fabricación, transporte y aplicación de insecticidas).

En México y en el mundo el cultivo del algodón genera muchos beneficios para todos los integrantes de la cadena productiva, actualmente se cultiva en más de 80 países y de acuerdo con el Comité Consultivo Internacional del algodón (ICAC) los principales países productores en el periodo 2007 - 2011 fueron: China, India, Estados Unidos, Brasil, Pakistán y Uzbekistán.

#### **viii. En su caso, referencia bibliográfica sobre los datos presentados**

- Alibhai, M., & Stallings, W. (2001). Closing down on glyphosate inhibition—with a new structure for drug discovery. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 98(6), 2944-2946.
- Amrhein N, Deus B, Gehrke P, Steinrücken HC. 1980. The site of the inhibition of the shikimate pathway by glyphosate. *Plant Physiol.* 66: 830-834.
- Aronson, A., Beckman, W., & Dunn, P. (1986). *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiol. Rev.*, 50, 1-24.
- Bartlett, S., Grossman, A., Chua, N., Edelman, M., Hallick, R., & Chua, N. (1982). *Methods in chloroplast molecular biology.* Elsevier.
- Bentley, R. (1990). The shikimate pathway--a metabolic tree with many branches. *Crit Rev Biochem Mol Biol.*, 25(5), 307-384.
- Boocock MR, Coggins JR. 1983. Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *FEBS Letters.* 154(1):127-133.
- Bravo, A., Hendrickx, K., Jansens, S., & Peferoen, M. (1992). Immunocytochemical Analysis of Specific Binding of *Bacillus thuringiensis* Insecticidal Crystal Proteins to Lepidopteran and Coleopteran Midgut Membranes. *J. Invertebr. Pathol.*, 60, 247-254.
- Brookes, G. and Barfoot, P. 2012. Economic impact of GM Crops: The global income and production effects 1996-2012.

- Clive, J. 2016. Informe 52. Resumen ejecutivo. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016, ISAAA 2016.
- Della-Cioppa, G., Bauer, S., Taylor, M., Rochester, D., Klein, B., Shah, D., . . . Kishore, G. (1987). Targeting a herbicide-resistant enzyme from *Escherichia coli* to chloroplasts of higher plants. *Bio/Technology*, 5, 579-584.
- Ebersold, H., Geiser, P., & Ettliger, L. (1978). The action of the d-endotoxin of *Bacillus thuringiensis*: an electron microscope study. *Experientia*, 34, 1672.
- Eschenburg, S., Healy, M., Priestman, M., Lushington, G., & Schonbrunn, E. (2002). How the mutation glycine96 to alanine confers glyphosate insensitivity to 5-enolpyruvyl shikimate-3-phosphate synthase from *Escherichia coli*. *Planta*, 216, 129–135.
- Forlani, G., Parisi, B., & Nielsen, E. (1994). 5-enol-pyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase from *Zea mays* cultured cells. *Plant Physiol.*, 105, 1107-1114.
- Franz, J., Mao, M., & Sikorski, J. (1997). *Glyphosate: A Unique Global Herbicide ACS Monograph 189* (1st Edition ed.). Washington, D.C.: American Chemical Society.
- Gupta, B., Dow, J., Hall, T., & Harvey, W. (1985). Electron probe X-ray microanalysis of the effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* crystal protein insecticide on ions and electrogenic K<sup>+</sup>-transporting epithelium of the larval midgut in the lepidopteran, *Manduca sexta* in vitro. *J. Cell Sci.*, 174, 137-152.
- Hérouet C., Esdaile D.J., Mallyon B.A., Debruyne E., Schulz A., Currier T., Hendrick K., van der Klis R.J., Rouan D. 2005. Safety evaluation of the phosphinothricin acetyltransferase proteins encoded by the *pat* and *bar* sequences that confer tolerance to glufosinate-ammonium herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 41: 134–149. C047049.
- Herouet-Guichenev, C., Rouquié, D., Freyssinet, M., Currier, T., Martone, A., Zhou, J., . . . Rouan, D. (2009). Safety evaluation of the double mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glyphosate herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 54, 143-153.
- Kishore, G., & Shah, D. (1988). Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. *Annual Review of Biochemistry*, 57, 627-663.
- Lebrun, M., Sailland, A., & Freyssinet, G. (1997). *Mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene encoding for said protein and transformed plants containing said gene*. International patent publication W0 97/04103-A2. 06.02.97. 25 pages.
- Mitsky, T.A. 1993. Comparative alignment of CP4 EPSPS to known allergenic and toxic proteins using Fasta algorithm. 700 Chesterfield Parkway North, St Louis, MO, USA 63198. Monsanto Report No. MSL: 12820. Monsanto Company.
- OECD. (1999). Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. *Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11*. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- OECD. (2002a). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No. 25. *Module II: Herbicide biochemistry, herbicide metabolism and the residues in glufosinate ammonium (Phosphinothricin)-tolerant transgenic plants. ENV/JM/MONO(2002)14*. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- SIAP 2016. Anuario estadístico de producción. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/agricultura/>
- Sikorski, J., & Gruys, K. (1997). Understanding glyphosate's molecular mode of action with EPSP synthase: Evidence favoring an allosteric inhibitor model. *Accounts of Chemical Research*, 30, 2-8.
- Steinrücken H.C., Amrhein N. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 94(4): 1207-1212.
- Thompson, C., Movva, N., Tichard, R., Cramer, R., Davies, J., & Lauwereys, M. (1987). Characterization of the herbicide-resistance gene *bar* from *Streptomyces hygroscopicus*. *EMBO J.*, 6, 2519–2523.
- Walsh CT, Benson TE, Kim DH, Lees WJ. 1996. The versatility of phosphoenolpyruvate and its vinyl ether products in biosynthesis. *Chemistry & Biology*. 3: 83-91.

- Wehrmann, A., Van Vliet, A., Opsomer, C., Botterman, J., & Schulz, A. (1996). The similarities of bar and pat gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology*, *14*, 1274-1278.
- Zhou, M., Xu, H., Wei, X., Ye, Z., Wei, L., Gong, W., Zhu, Z. (2006). Identification of a glyphosate-resistant mutant of rice 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase using a directed evolution strategy. *Plant Physiology*, *140*, 184-195.

### III. CANTIDAD DEL OGM A LIBERAR

La superficie solicitada y la cantidad de semilla a importar y liberar se indican en el cuadro 8.

**Cuadro 8.** Superficie y cantidad de semilla solicitada.

Superficie solicitada	Cantidad de semilla solicitada
1,200 ha	20,400 kg

La liberación del algodón GlyTol® TwinLink® se realizará únicamente en el polígono que se incluye en la presente solicitud y a más de 1 km del Área Natural Protegida Reserva de la Biosfera “Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado”.

### IV. CONDICIONES DE MANEJO QUE SE DARÁN AL OGM

BASF Mexicana, S.A. de C.V. tiene un protocolo para la movilización de material genéticamente modificado que es llevado a cabo en forma muy rigurosa antes de proceder a cualquier envío e incluye medidas para garantizar la calidad y trazabilidad de la semilla que se va a mandar al país de destino.

Las medidas y procedimientos que se indican a continuación tienen el objetivo de asegurar que el algodón GlyTol® TwinLink® será manejado de manera responsable desde su origen hasta su destino final.

El Departamento de Comercio Internacional a través del Agente Aduanal contratado para tal fin, realiza la liberación de la semilla de la aduana; en caso de cualquier contratiempo o que se requiera algún tipo de aclaración, el Coordinador responsable del Dpto. de Comercio Internacional lo comunicará inmediatamente a la Gerencia de Negocio y Asuntos Regulatorios, en caso de ser necesaria documentación adicional ésta será provista por la gerencia correspondiente.

Previo a la movilización de la semilla, el responsable del traslado constatará que:

- No se produjeron pérdidas accidentales durante el proceso de descarga y liberación.
- Los envases no sufrieron deterioro que impida su transporte y que éstos estén correctamente identificados.
- El movimiento de la semilla será realizado el mismo día de la liberación de aduana. En caso de que no hubiera posibilidad de movilizar la semilla ese mismo día, la misma será almacenada temporalmente en instalaciones aprobadas por BASF para tal fin.
- Los documentos para la movilización serán archivados en la empresa BASF para ser consultados por las personas autorizadas.

Una vez realizado lo anterior la semilla será transportada vía terrestre al almacén de BASF Mexicana.



Después de que la semilla es ingresada a la bodega se deberá proceder a actualizar los respectivos inventarios, tomando el peso bruto del material que ingresa, el estado del paquete y la persona que lo hace.

Las personas autorizadas para ingresar a la bodega deberán llenar el formato de registro de entrada y salida de personal e indicar el motivo de su ingreso.

Todos los envases individuales estarán etiquetados y la etiqueta deberá colocarse de manera que se preserven estos datos durante el periodo de almacenamiento y movilización. De igual manera, deberá contener la siguiente información con base en la NOM-001-SAG/BIO-2014.



**GlyTol® TwinLink®**

BASF MEXICANA, S.A. DE C.V.  
Av. Insurgentes Sur 975, Col. Ciudad de los Deportes, C.P. 03710 Ciudad de México.  
Tel. (55) 53 25 23 00

R.F.C. BME8109104S6

#### SEMILLA GENETICAMENTE MODIFICADA

SEMILLA DE ALGODÓN (*Gossypium hirsutum* L.)

VARIEDAD: Indicada en la bolsa

**Tecnología:** GlyTol® TwinLink®

**Identificador OCDE:** BCS-GH002-5 x BCS-GH004-7 x BCS-GH005-8

**Germinación:** 80% (MIN)

**Semilla pura:** 99%

**Materia inerte:** 1% (MAX)

**Semilla de maleza nociva/kg:** Ninguna

**Semilla de otros cultivos:** Ninguna

**Categoría de la semilla:** Declarada

**Fecha de análisis de germinación:** Información en la bolsa

**Número de Lote:** Información en la bolsa

**Contenido neto:** 220,000 semillas.

**Importante:** Sacos llenados por conteo de semilla, el peso puede variar entre 21 – 25 kg/bolsa.

**Semilla producida en Estados Unidos de América por:** BASF Agricultural Solutions Seed US LLC. 3316 9th Street, Lubbock, TX, 79409, USA.

**Exportada por:** BASF Agricultural Solutions Seed US LLC. 3316 9th Street, Lubbock, TX, 79409, USA.

Importada por: BASF Mexicana, S.A. de C.V. Insurgentes Sur No 975, C.P. 03710 Ciudad de México. Tel: 55-53-25-2600.

**Tratamiento de la semilla:** Desborre químico a base de ácido, semilla tratada con fungicidas e insecticidas.

**Fungicidas:** Vortex® FS (ipconazole), Allegiance® FL (metalaxyl), Spera® 240 FS (myclobutanil), EverGol® Prime (penflufen).

**Insecticidas:** Gaucho® 600 (imidacloprid)

**ADVERTENCIA:** Esta semilla ha sido tratada con plaguicidas, por lo tanto:

- “Manténgase fuera del alcance de los niños, mujeres embarazadas, en lactancia y animales domésticos”
- “No se transporte ni se almacene junto a productos alimenticios o forrajes”
- “No se almacene en casas habitación”
- “No se utilice como alimento ni para extracción de aceite”

**Variedad Genéticamente Modificada:** El algodón GlyTol® TwinLink® (GLT) expresa las proteínas insecticidas Cry1Ab de *Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki* y Cry2Ae de *Bacillus thuringiensis subsp. Dakota*, que le confieren resistencia al ataque de insectos lepidópteros como gusano rosado (*Pectinophora gossypiella*) y gusano tabacalero (*Heliothis virescens*), así mismo expresa las proteínas PAT de *Streptomyces hygroscopicus* y 2mEPSPS del maíz, que le confieren tolerancia a las aplicaciones totales de los herbicidas glufosinato de amonio y glifosato, permitiendo el uso de dos mecanismos de acción herbicida para un manejo más eficiente de la maleza en el cultivo del algodón. El algodón GlyTol® TwinLink® (GLT) puede requerir aplicaciones complementarias de insecticidas para el control de insectos difíciles como gusano bellotero (*Helicoverpa zea* Boddie), gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) y gusano soldado (*Spodoptera exigua* Hubner), por lo tanto, se debe mantener un monitoreo constante de plagas en el cultivo para determinar si es necesaria la aplicación complementaria de insecticidas para asegurar el nivel control deseado.

Para su manejo agronómico, se sugiere seguir las indicaciones de manejo para el algodón del campo experimental del INIFAP más cercano. La temperatura de suelo mínima para obtener una buena germinación y emergencia de la semilla de algodón es de 18°C. Siembras realizadas cuando el clima no permita estas condiciones pueden resultar en un mal establecimiento del cultivo.

**Precauciones y advertencias de bioseguridad:**

- “Esta Semilla Genéticamente Modificada no debe sembrarse, cultivarse o producirse fuera de las zonas autorizadas para su liberación”
- “El uso de esta semilla genéticamente modificada implica cumplir las medidas de bioseguridad y condicionantes contenidas en el permiso de liberación al ambiente”
- “Esta semilla no está destinada para consumo”
- “En caso de liberación accidental, repórtelo a: [libaccidentalogm.dgiaap@senasica.gob.mx](mailto:libaccidentalogm.dgiaap@senasica.gob.mx). C.P. 04530, Tel. +52 (55) 5905 1000 Ext. 51500, 51501 y 51502

**“PROHIBIDA SU SIEMBRA EN ÁREAS NATURALES PROTEGIDAS”**

Si se utiliza un envase secundario (embalaje), éste también se etiquetará de manera visible con la información del inciso anterior y especificará la cantidad de envases individuales que contiene.

### **Movilización de la semilla**

La semilla saldrá del almacén sólo cuando BASF lo autorice y será transportada vía terrestre hacia los sitios de liberación ubicados en los municipios autorizados de Baja California y Norte de Sonora y, una vez que la semilla sea entregada al distribuidor con quien BASF tenga un convenio vigente, se procederá a revisar el inventario de semilla y firmar de recibido si las cantidades despachadas coincide con las cantidades entregadas.

Las medidas de bioseguridad que se van a utilizar durante las diferentes etapas de la movilización son:

1. Las semillas de algodón GM serán transportadas en bolsas de papel resistentes a la manipulación, selladas para prevenir cualquier derrame desde el origen hasta las bodegas y/o sitios autorizados para la liberación al ambiente.
2. Al documentar los embarques de semilla, se harán todas las especificaciones pertinentes a la compañía transportadora para que el material sea maniobrado con cuidado y evitar rompimiento de las bolsas.
3. Los envases (bolsas) estarán claramente identificados mediante etiquetas visibles y acordes a las especificaciones establecidas en la NOM-001-SAG/BIO-2014.
4. En caso de de liberación accidental del material de algodón genéticamente modificado durante el transporte, se notificará al correo [libaccidentalogm.dgjaap@senasica.gob.mx](mailto:libaccidentalogm.dgjaap@senasica.gob.mx), dentro de las 24 horas siguientes que se tenga conocimiento de la misma, e informará de manera oficial en un periodo de 3 días hábiles a la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera y a la Dirección General de Sanidad Vegetal de la situación, así mismo, BASF implementará inmediatamente las siguientes acciones:
  - Georreferenciar el sitio de la liberación accidental y delimitar el área de dispersión.
  - Recuperar toda la semilla que sea posible.
  - Realizar un balance entre la semilla transportada y la semilla recuperada para conocer la cantidad de semilla no recuperada y documentarlo.
  - Recabar evidencia fotográfica del sitio de liberación y del material liberado.
  - Establecer un programa de monitoreo de plantas voluntarias en el sitio de liberación por un periodo de 6 meses.
  - Eliminación de plantas voluntarias de manera manual o mediante el uso de herbicidas.
  - Entregar un reporte al SENASICA con la documentación de las actividades realizadas.

## Documentación para la movilización

- Lista de inventario de todos los envases, embalajes y materiales que se envían especificando la fecha de envío.
- Guía original de transporte especificando claramente la fecha de envío con la lista de inventario anexa.
- La guía de transporte y la lista de inventario debe enviarse vía correo electrónico a la persona autorizada para recibir la semilla con anticipación al envío.
- Los documentos relacionados con el transporte de la semilla de algodón GM se mantendrán bajo resguardo.
- Las empresas transportistas serán provistas de una Hoja de datos de seguridad para transporte, desarrollada específicamente para semillas genéticamente modificadas.

## V. IDENTIFICACIÓN DE LA ZONA O ZONAS DONDE SE PRETENDA LIBERAR EL OGM

### V.a Superficie total del predio o predios donde se realizará la liberación

La superficie solicitada y la cantidad de semilla a importar y liberar se indican en el cuadro 9.

**Cuadro 9.** Superficie y cantidad de semilla solicitada.

Superficie solicitada	Cantidad de semilla solicitada
1,200 ha	20,400 kg

La liberación del algodón GlyToI® TwinLink® se realizará únicamente en el polígono que se incluye en la presente solicitud y a más de 1 km del Área Natural Protegida Reserva de la Biosfera “Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado”.

### V.b Ubicación, en coordenadas UTM, del polígono o polígonos donde se realizará la liberación

Los vértices del polígono propuesto para la liberación del algodón GlyToI® TwinLink® en la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora, durante el ciclo agrícola PV-2020 se entregaron a la Autoridad correspondiente.

### V.c Descripción de los polígonos donde se realizará la liberación y de las zonas vecinas a éstos en un radio según las características de diseminación del OGM de que se trate:

El polígono propuesto para la liberación de algodón GLT en programa Piloto se ubica en la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora y comprende parte de los municipios de Mexicali y San Luis Rio Colorado.

**V.c.1 Listado de especies sexualmente compatibles y de las especies que tengan interacción en el área de liberación y en zonas vecinas a éstos en el radio señalado en este inciso.**

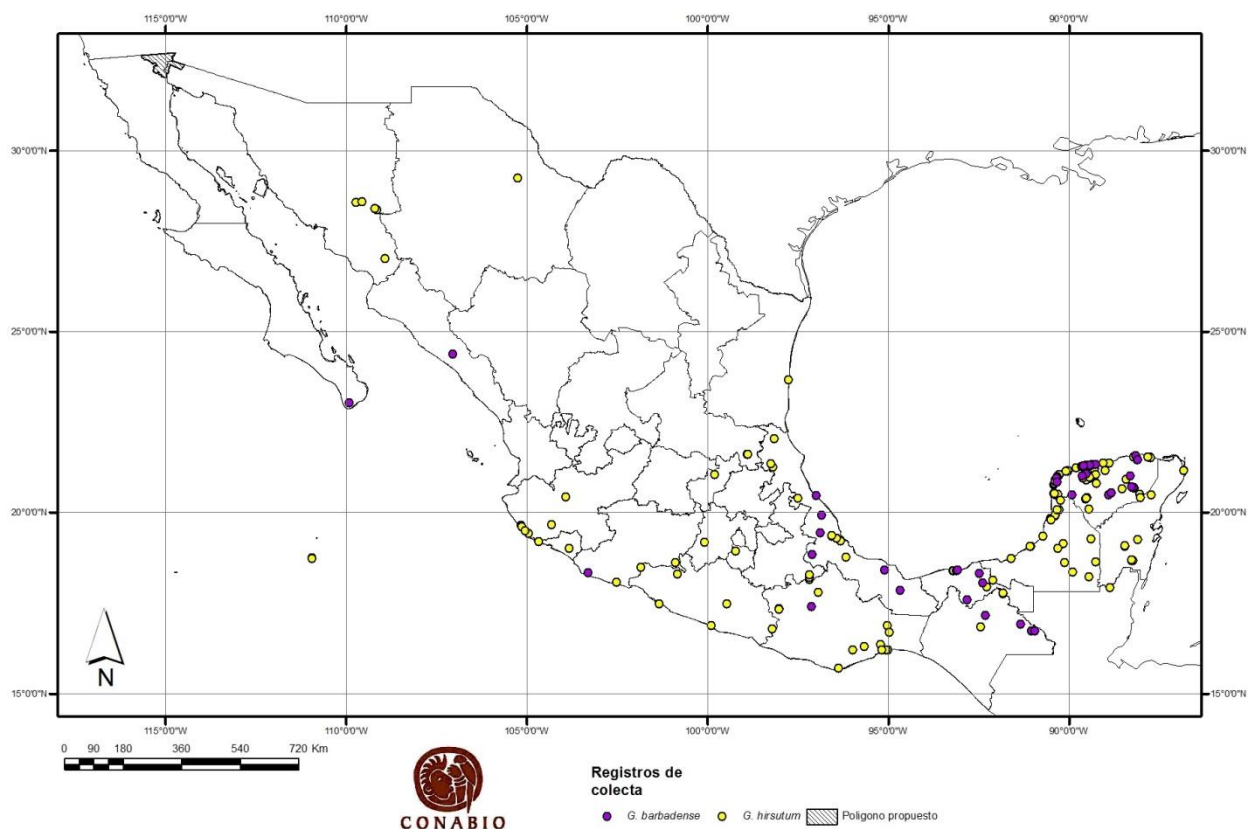
No existen especies sexualmente compatibles con el algodón cultivado (*Gossypium hirsutum*) en el área de liberación propuesta. De acuerdo con Fryxell (1984), Talipov *et al.* (1995), Palomo (1996) y la Red de Información de Recursos de Germoplasma (GRIN) del Servicio de Investigación Agrícola (ARS-USDA) de Estados Unidos (<http://www.ars-grin.gov>), se reportan las siguientes especies de *Gossypium* para la región Norte de México (cuadro 10).

**Cuadro 10.** Especies de *Gossypium* reportadas en la literatura para el Norte de México.

Especie	Localidad	Número de cromosomas	Año de descubrimiento	Uso
<i>Gossypium hirsutum</i> L.	Regiones agrícolas	52	1763	Cultivada
<i>Gossypium thurberi</i> Tod	Sonora, Baja California Sur, Chihuahua	26	1854	Silvestre
<i>Gossypium davidsonii</i> Kellogg	Baja California Sur, Sonora	26	1873	Silvestre
<i>Gossypium armourianum</i> Kearney	Baja California Sur	26	1933	Silvestre
<i>Gossypium harknessii</i> Brandegeee	Baja California Sur	26	1933	Silvestre
<i>Gossypium aridum</i> (Rose & Standl.) Skovst	Sinaloa	26	1911	Silvestre
<i>Gossypium trilobum</i> (Mocino & Sesse ex DeCandolle) Skovsted	Sinaloa	26	-	Silvestre
<i>Gossypium turneri</i> Fryxell	Sonora	26	-	Silvestre

De acuerdo a lo descrito por la CONABIO en 2011, no existen poblaciones silvestres cercanas al polígono de liberación de Baja California y Sonora. Asimismo, las metapoblaciones de *Gossypium hirsutum* se reportan una distancia de 613.67 km del área de liberación al sitio de colecta del organismo receptor silvestre, lo cual constituye una barrera física y espacial de aminoración del riesgo de flujo génico (Figura 7).

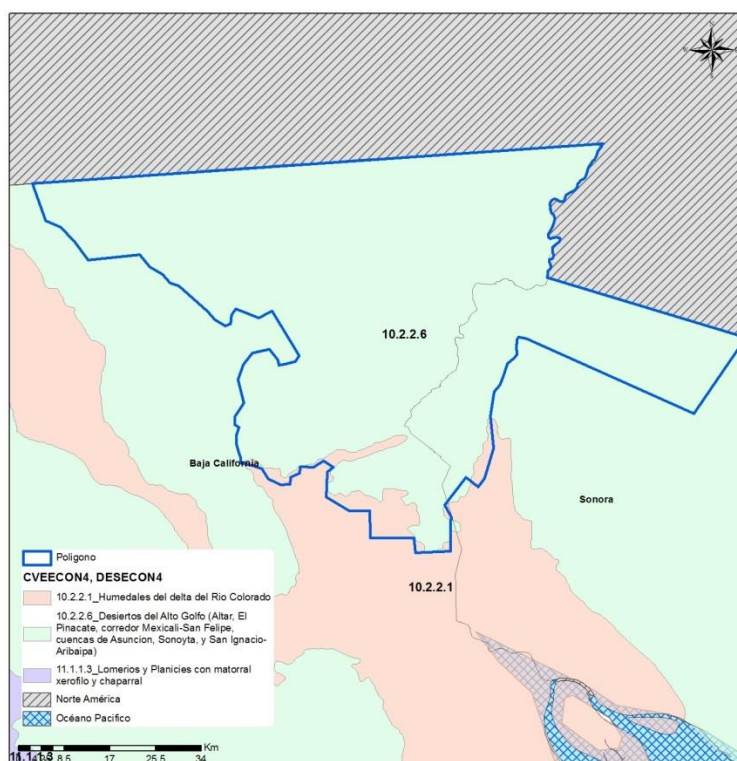
Las especies silvestres reportadas para México son diploides ( $2n=2x=26$ ) y, por lo tanto, son sexualmente incompatibles con el algodón cultivado *G. hirsutum* el cual es una especie alotetraploide ( $2n=4x=52$ ). En el caso de se pudieran encontrar especies silvestres cercanas a las regiones agrícolas y en la situación improbable de que pudieran quedar en contacto con polen de *G. hirsutum* (tetraploide), el producto de la fecundación sería triploide y durante la metafase de la meiosis no se podría realizar el apareamiento de homólogos, imposibilitando así la formación de un cigoto fértil por la disparidad de los sistemas genéticos (Stewart, 1995; Wendel *et al.*, 2010; Kantartzi, 2010). A esta barrera genética se debe incluir la barrera temporal para el entrecruzamiento ya que no se presenta coincidencia en los períodos de floración entre poblaciones silvestres y plantaciones comerciales. Por otra parte, la distribución de la especie alotetraploide *G. barbadense* se encuentra limitada principalmente al sureste de México lejos de las zonas productoras de algodón comercial en el norte de la República Mexicana.



**Figura 7.** Distribución puntual de *Gossypium hirsutum* y de sus parientes silvestres con los que puede hibridar y tener descendencia viable.

### V.c.2 Descripción geográfica

El polígono donde se realizará la liberación de algodón GLT está ubicado en los estados de Baja California y Sonora, específicamente en los municipios de Mexicali y San Luis Rio Colorado respectivamente. Dicho polígono comprende las regiones ecológicas 10.2.2.6, *Desierto del Alto Golfo (Altar, El Pinacate, corredor Mexicali-San Felipe, cuencas de Asunción, Sonoyta y San Ignacio-Aribaipa)* y 10.2.2.1 *Humadales del Delta del Rio Colorado*, sin embargo, solo se pretende liberar en la primera, ya que es donde se cuenta con antecedentes en etapa experimental y la segunda se incluye por practicidad en el trazado del polígono.



**Figura 8.** Regiones ecológicas comprendidas en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.

Ambas regiones ecológicas corresponden a su vez a la región ecológica Nivel I “*Desiertos de América del Norte*” y fueron determinadas con base en criterios de toposformas, datos de vegetación primaria, límites de unidades geológicas y límites de suelos en escala 1:1 000 000.

### Tipos de suelo

En la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora se presentan 5 tipos de suelo, cuyas características principales se describen a continuación:

**Regosol calcárico (Rc):** Son suelos ubicados en muy diversos tipos de clima y vegetación, tienen poco desarrollo y por ello no presentan campos muy diferenciadas entre sí. En general son claros o pobres en materia orgánica, ricos en cal y nutrientes para las plantas. Frecuentemente son someros, su fertilidad es variable y su productividad está condicionada a la profundidad y pedregosidad

**Vertisol crómico (Vc):** Suelos de climas templados y cálidos, especialmente de zonas con una marcada estación seca y otra lluviosa. La vegetación natural va de selvas bajas a pastizales y matorrales. Se caracterizan por su estructura masiva y su alto contenido de arcilla, la cual es expandible en húmedo formando superficies de deslizamiento llamadas facetas y, que por ser colapsables en seco, pueden formar grietas en la superficie o a determinada profundidad. Su

color es pardo o rojizo, en algunas ocasiones amarillento. Son de fertilidad moderada y con alta capacidad para proporcionar nutrientes a las plantas.

**Regosol eútrico (Re):** son suelos ubicados en muy diversos tipos de clima, vegetación y relieve. Tienen poco desarrollo y por ello no presentan capas muy diferenciadas entre sí. En general son claros o pobres en materia orgánica, se parecen bastante a la roca que les da origen. En México constituyen el segundo tipo de suelo más importante por su extensión (19.2%). Muchas veces están asociados a litosoles y con afloramientos de roca o tepetate. Frecuentemente son someros, su fertilidad es variable y su productividad está condicionada a la profundidad y pedregosidad. Son suelos ligeramente ácidos a alcalinos y más fértiles que los suelos dístricos.

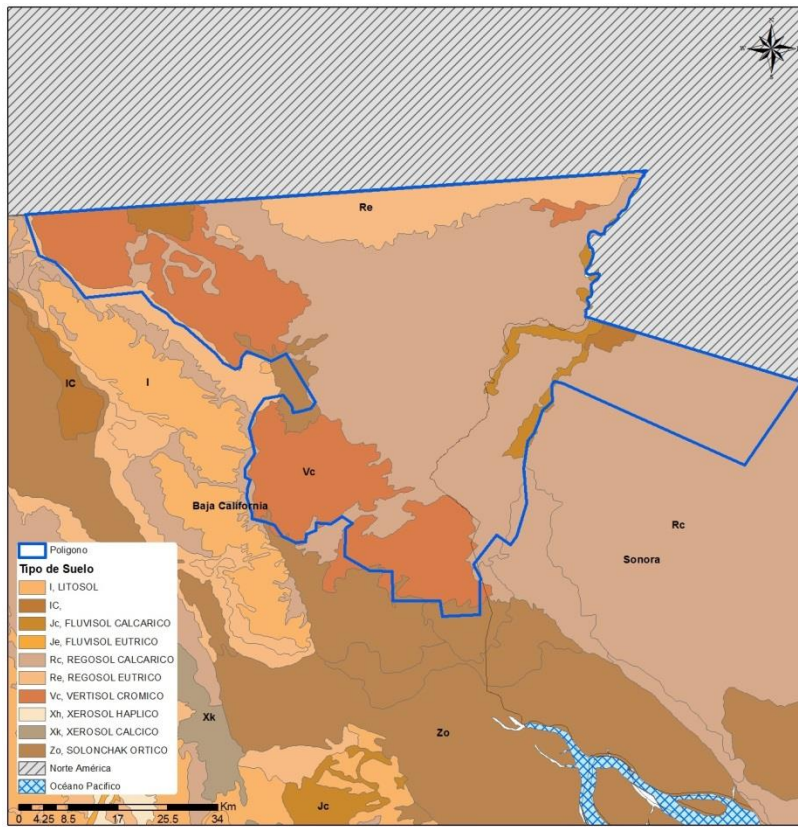
**Fluvisol calcárico (Jc):** está caracterizado por un contenido en carbonato cálcico muy variable, que suele oscilar entre el 20% y el 50%, debido a que han recibido aportes continuos de los productos de alteración de las rocas carbonatadas, muy frecuentes en toda la región, o de suelos igualmente calizos erosionados de áreas circundantes. En general, son suelos con alta fertilidad y susceptibles de incrementar su productividad con prácticas agrícolas relativamente sencillas, como mejorar su estructura con enmiendas orgánicas y laboreo adecuado y combatir los problemas de fijación de fósforo y micronutrientes como consecuencia del posible exceso de carbonatos.

**Solonchak órtico (Zo):** Se presentan en zonas donde se acumula el salitre, tales como lagunas costeras y lechos de lagos, o en las partes más bajas de los valles y llanos de las regiones secas del país. Tienen un alto contenido de sales en todo o en alguna parte del suelo. La vegetación típica para este tipo de suelos es el pastizal u otras plantas que toleran el exceso de sal (halófilas). Su empleo agrícola se halla limitado a cultivos resistentes a sales o donde se ha disminuido la concentración de salitre por medio del lavado del suelo. El solonchak órtico tiene la principal característica de contar con una capa superficial clara y pobre en materia orgánica y nutrientes, además son suelos que no presentan características de otras subunidades existentes en otros suelos.

Como puede observarse en las descripciones anteriores, los principales tipos de suelo presentes en el polígono de liberación son de fertilidad variable a moderada, sin embargo, gracias a la capacidad de adaptación del cultivo de algodón y a las prácticas agronómicas realizadas en la región como el riego y la fertilización es posible obtener buenos rendimientos de algodón pluma.

Por otro lado, el suelo puede ser un factor importante como reservorio de semilla de algodón genéticamente modificado puesto que, al existir condiciones ambientales adecuadas, se puede propiciar la emergencia de plantas voluntarias, sin embargo, las características de los mismos son un factor limitante para la germinación de semilla sin un manejo agronómico adecuado.





**Figura 9.** Tipos de suelo presentes en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.

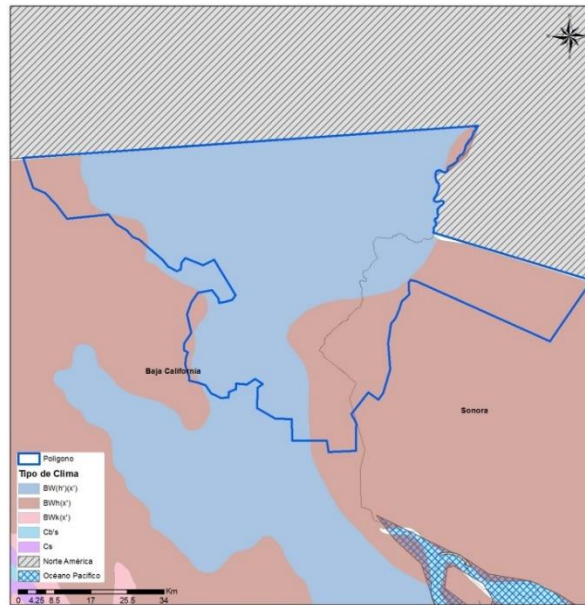
## Clima

El clima en la región es extremo, la temperatura media anual es de 21.7°C; de julio a agosto es normal que se registren temperaturas máximas de 45°C, de diciembre a enero es común que se registren temperaturas mínimas de -2.0°C, aunque es posible que se presenten de -7.0 °C.

Los tipos de clima característicos en el polígono son BWh(x') y Bw (h')(x'), cuyas características se describen a continuación:

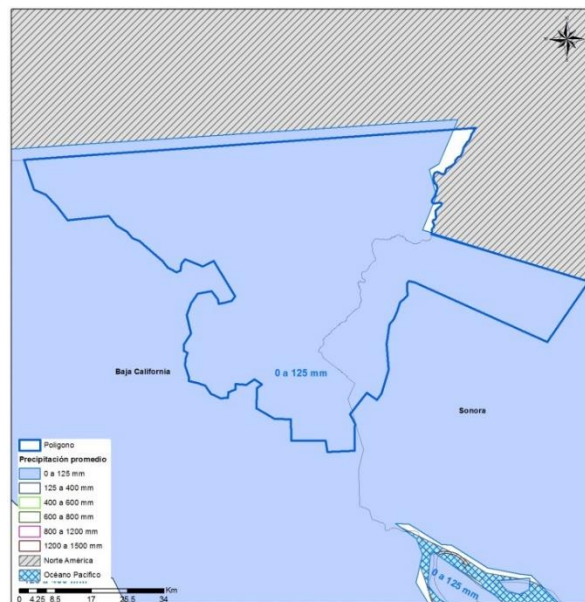
**BWh(x')**: Es un clima desértico muy seco, semicálido, con temperaturas medias anuales de 18° a 22°C y del mes más frío < 18°C. Su porcentaje de lluvia de invierno es mayor del 10.2% del total anual (García, 2004).

**Bw (h')(x')**: Es un tipo de clima seco desértico, cálido, con una temperatura anual sobre 22° y de 18° del mes más frío con lluvias poco abundantes que pueden presentarse en cualquier época del año (García E., 2004).



**Figura 10.** Tipos de clima presentes en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.

De manera general la precipitación promedio fluctúa de 0 a 125 mm en todo el polígono de liberación.



**Figura 11.** Precipitación promedio en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.

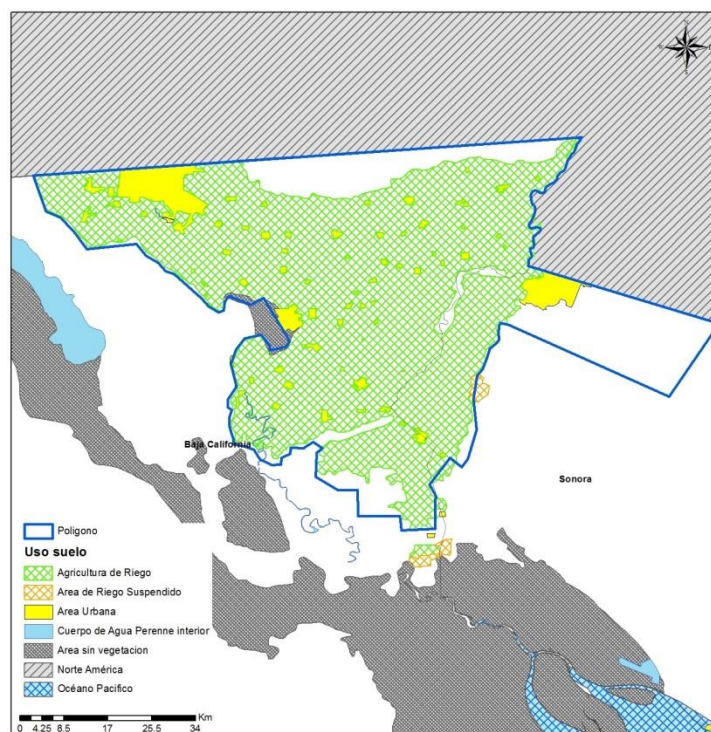
Con base en las características expuestas de temperatura y precipitación, se puede concluir que dichas condiciones pueden ser factores limitantes para la germinación y sobrevivencia de plantas

de algodón fuera del ciclo agrícola sin un manejo agronómico adecuado, aunado a lo anterior, se implementará un programa de monitoreo y destrucción de plantas voluntarias para evitar el riesgo de que éstas puedan establecerse como hospederas de plagas y enfermedades o que exista flujo génico hacia parientes silvestres.

### Uso de suelo

El polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora comprende la zona agrícola de riego del Valle de Mexicali y San Luis Río Colorado, en la cual destaca como principal zona agrícola el Distrito de Riego No. 014, Río Colorado, en el que se cultivan anualmente alrededor de 207,000 ha, de las cuales el 88% corresponde al Valle de Mexicali y el 12% al Valle de San Luis Río Colorado (Hernández-Vázquez *et al.*, 2010).

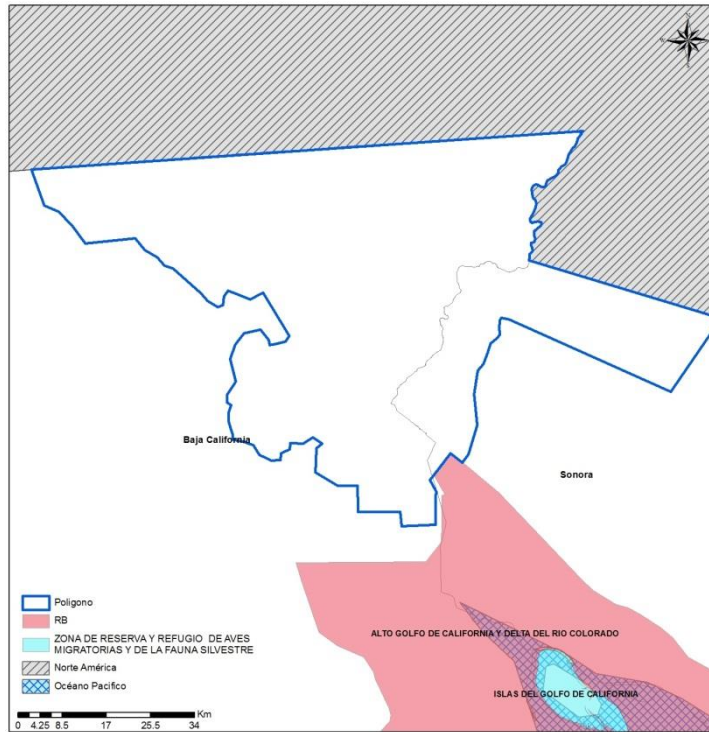
En la región se siembran comercialmente alrededor de 50 especies de plantas cultivadas de las cuales el trigo, cebollín, cártamo, ryegrass y otras de otoño-invierno ocupan el 59.30 % de la superficie; en el ciclo de primavera-verano se siembra alrededor del 20.10 % de la superficie, destacando el algodón, sorgo y hortalizas. Los cultivos perennes tales como alfalfa, espárrago y olivo ocupan alrededor del 20.60% (Hernández-Vázquez *et al.*, 2010).



**Figura 12.** Zona agrícola en el polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.

La liberación del algodón GlyTol® TwinLink® se hará exclusivamente dentro del polígono especificado en la solicitud, el cual no se traslapa con las áreas naturales protegidas: **Constitución de 1857, El Pinacate y Gran desierto de Altar, Alto Golfo de California y Delta**

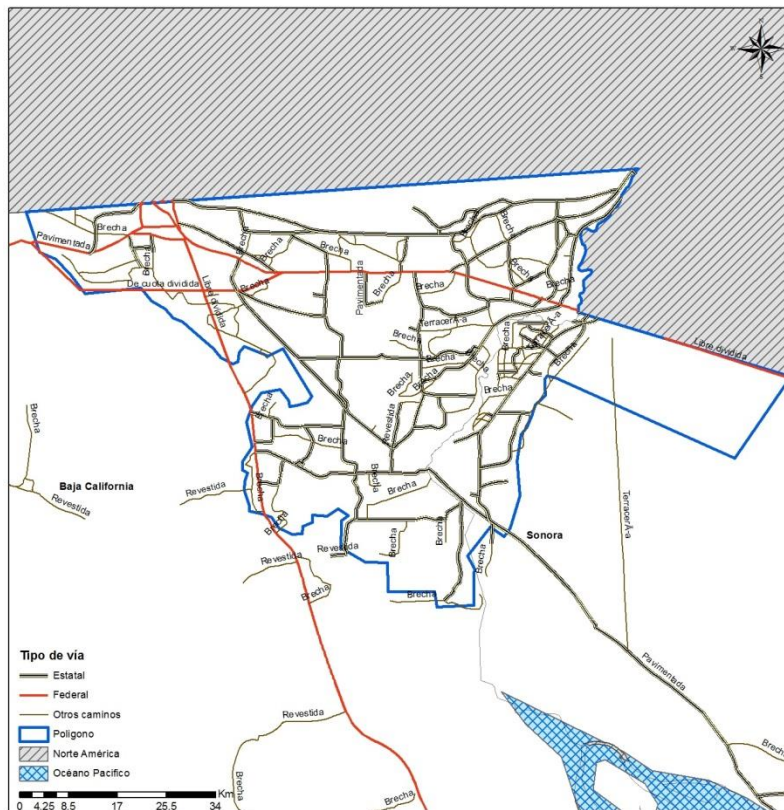
del Río Colorado y Sierra de San Pedro Martir; no obstante y con fundamento en lo establecido en el Artículo 89 de la Ley de Bioseguridad de Organismos Genéticamente Modificados y los Artículos 48 y 49 de la Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente, BASF Mexicana, S.A. de C.V. establecerá los controles y cumplirá con las medidas de bioseguridad necesarias para que la liberación del algodón genéticamente modificado GLT no se realice en las zonas núcleo y a menos de un kilómetro de las Áreas Naturales Protegidas anteriormente mencionadas (Figura 13).



**Figura 13.** Áreas naturales protegidas adyacentes al polígono de liberación de Baja California y Norte de Sonora.

### V.c.3 Plano de ubicación señalando las principales vías de comunicación

En la Figura 14 se presentan las principales vías de comunicación en el polígono de liberación, las cuales están representadas por carreteras federales, carreteras estatales y brechas o caminos de terracería por donde será transportado el algodón GLT a los sitios de liberación.



**Figura 14.** Ruta de carreteras dentro del polígono de liberación.

## VI. MEDIDAS DE MONITOREO Y DE BIOSEGURIDAD A REALIZAR

### VI.a Medidas de monitoreo:

#### VI.a.1 Plan de monitoreo detallado

Se efectuará un monitoreo durante y posterior a la liberación el algodón GLT. Las actividades a realizar incluyen:

- Firmar el contrato de licencia no exclusiva para el uso de la tecnología de BASF, en dónde los agricultores cooperantes se comprometen a respetar e implementar las medidas de bioseguridad y condicionantes establecidas en el permiso de liberación al ambiente.
- Efectuar una localización georreferenciada de los predios de los agricultores cooperantes que siembren algodón GLT, con el propósito controlar la ubicación de los sitios de liberación y de esa manera evitar que se siembre en zonas no autorizadas.

- Auditorías internas por parte de los departamentos de Compliance y Stewardship de BASF para vigilar el cumplimiento de las medidas de bioseguridad y condicionantes establecidas en el permiso.
- Realizar capacitaciones a todo el personal involucrado en la liberación (agricultores cooperantes, técnicos, distribuidores, empresas despepitadoras, autoridades locales) con el objetivo de que toda persona relacionada con el cultivo conozca las implicaciones, riesgos y beneficios derivados del uso y manejo del algodón GLT. Los entrenamientos se enfocarán en materia de bioseguridad de organismos genéticamente modificados, uso adecuado del algodón GLT, resistencia de maleza a herbicidas, importancia del manejo de la resistencia de insectos mediante la implementación de prácticas como siembra de refugio, monitoreo de plagas y uso de otros métodos de control.

**VI.a.2 Estrategias de monitoreo posteriores a la liberación del OGM, con el fin de detectar cualquier interacción entre el OGM y especies presentes en el área de la zona o zonas donde se pretenda realizar la liberación, cuando existan**

Posterior a la liberación se realizará un programa de monitoreo de plantas voluntarias en la región agrícola de Baja California y Norte de Sonora mediante el cual se harán las siguientes actividades:

- Georreferenciar los predios en dónde se liberó el algodón GLT y los despepites que funcionaron durante el ciclo agrícola para definir las rutas de exploración.
- Realizar recorridos de exploración por las principales vías de acceso y vías secundarias de las zonas productoras hacia los despepites.
- Registrar mediante coordenadas geográficas los puntos de detección y eliminación de plantas voluntarias.
- Elaborar mapas de distribución de focos de infestación (plantas voluntarias de algodón)
- Eliminar en su totalidad las plantas detectadas antes de que lleguen a la etapa de floración de manera manual, con herramientas como pala y pico o mediante el uso de herbicidas no selectivos como 2,4-D y Picloram.
- Evidenciar mediante fotografías cada punto de detección y eliminación de plantas voluntarias.
- Registrar la información de los monitoreos en formatos de campo, en los que se incluirá la fecha de los recorridos, ubicación de los sitios de detección, evidencia de la destrucción y ubicación de los despepites activos en cada zona y elaborar un reporte que será entregado a las autoridades correspondientes.

### **VI.a.3 Estrategias para la detección del OGM y su presencia posterior en la zona o zonas donde se pretenda realizar la liberación y zonas vecinas, una vez concluida la liberación**

Se efectuará un monitoreo de plantas voluntarias como se describió anteriormente. Además, en el siguiente ciclo de siembra del algodón, en caso de ser necesario y donde llegara a existir controversia respecto al origen del algodón que se esté sembrando en la zona de liberación y zonas vecinas, se utilizarán métodos para detectar el evento GLT en muestras de hojas.

Para realizar el monitoreo se utilizan tiras reactivas (QuickStix® Strips) en muestras de hojas. La utilización de dichas tiras permite, al igual que en el caso de otros cultivos GM, identificar de forma rápida y confiable al algodón GlyToI® TwinLink®. El método identifica en forma específica las proteínas Cry1A, Cry2Ae, 2mEPSPS y PAT/BAR.

- EnviroLogix. QuickStix™ Combo Comb Kit for Multi-Trait Testing Cry1Ab/2Ae/2m/bar Cotton Leaf and Seed
- Catalog Number: AS 059 LS.

Este método está disponible públicamente y puede ser consultado en la siguiente dirección:  
<https://www.envirologix.com/wp-content/uploads/2015/09/AS059-LS-Product-Insert.pdf>

### **VI.b Medidas de bioseguridad:**

#### **VI.b.1 Medidas para la erradicación del OGM en zonas distintas a las permitidas**

Las medidas y procedimientos de bioseguridad están diseñados para evitar cualquier contingencia, de tal forma que existe un riesgo mínimo de que cualquier evento de este tipo pueda ocurrir. Sin embargo, en caso de identificar, como resultado de un monitoreo aleatorio de las zonas algodonerías, predios sembrados con algodón GLT, los cuales no son parte del padrón de agricultores cooperantes, quienes han firmado una licencia de uso de la tecnología de BASF Mexicana, S.A. de C.V., se procederá a la integración de un registro de quién o quiénes hayan procedido fuera de la ley y se actuará de acuerdo a los procedimientos legales que corresponden. El hecho se informará a la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera (DGIAAP).

Si ocurriese una diseminación accidental durante el transporte de la semilla o de la cosecha, se tomarán las medidas de bioseguridad necesarias para impedir que el material BCS-GH002-5 x BCS-GH004-7 x BCS-GH005-8 se propague o disemine, y se realizará la recuperación total del material regulado. Asimismo, de acuerdo a lo establecido en el Artículo 59 del Reglamento de la LBOGM, se notificará al correo [libaccidentalogm.dgiaap@senasica.gob.mx](mailto:libaccidentalogm.dgiaap@senasica.gob.mx), dentro de las 24 horas siguientes que se tenga conocimiento de la liberación y se informará de manera oficial en un máximo de 3 días hábiles a la ventanilla de la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera (DGIAAP)

Como se menciona en el plan de monitoreo, se mantendrá un control de los predios por medio de su ubicación georreferenciada y de esta manera evitará que se siembre algodón GLT fuera de los predios autorizados. Así mismo, se firmarán licencias de uso de la tecnología con agricultores cooperantes.

#### **VI.b.2 Medidas para la protección de la salud humana y el ambiente, en caso de que ocurriera un evento de liberación no deseado**

No aplica. Los algodones que expresan las proteínas *Bt* tienen una historia larga de uso seguro y el análisis de riesgo ha demostrado que el algodón GlyTol® TwinLink® no posee algún riesgo para el ambiente, ni para la flora o la fauna. El algodón GLT sólo se distingue de su contraparte convencional por la resistencia que presenta al ataque de insectos lepidópteros y por la tolerancia que tiene a los herbicidas glufosinato de amonio y glifosato, atributo conferido por la expresión de las proteínas Cry1Ab, Cry2Ae, PAT y 2mEPSPS.

Por otra parte, el evento cuenta con la autorización de COFEPRIS, lo cual constata que es un producto seguro para consumo humano y animal.

#### **VII. NÚMERO DE AUTORIZACIÓN EXPEDIDA POR SALUD CUANDO EL OGM SE DESTINE PARA USO O CONSUMO HUMANO, O SE DESTINE A PROCESAMIENTO DE ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO, O TENGA FINALIDADES PARA SALUD PÚBLICA O A LA BIORREMEDIACIÓN.**

El evento genético combinado GlyTol® TwinLink® (GHB614 x T304-40 x GHB119) cuenta con la formal autorización No. 123300913X0001 de fecha 14 de septiembre de 2012 (COF – 006381), expedida por la Secretaría de Salud a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS).

#### **VIII. EN CASO DE IMPORTACIÓN DEL OGM, COPIA LEGALIZADA O APOSTILLADA DE LAS AUTORIZACIONES O DOCUMENTACIÓN OFICIAL QUE ACREDITE QUE EL OGM ESTÁ PERMITIDO CONFORME A LA LEGISLACIÓN DEL PAÍS DE ORIGEN, TRADUCIDA EN ESPAÑOL.**

El algodón GlyTol® fue desregulado en Estados Unidos de América el 22 de mayo de 2009 (No. APHIS-2007-0017) y el algodón TwinLink® el 12 de octubre de 2011 (No. APHIS-2010-0102). En la carpeta de Anexos se incluyen las notificaciones correspondientes (información confidencial). De igual manera, se anexa la copia apostillada que acredita que el algodón GLT está permitido conforme a la legislación del país de origen, así como su respectiva traducción por parte de un Perito traductor autorizado por el Tribunal Superior de Justicia del Distrito Federal (información confidencial).



## **IX LA PROPUESTA DE VIGENCIA DEL PERMISO Y LOS ELEMENTOS EMPLEADOS PARA DETERMINARLA**

Se solicita el permiso de liberación al ambiente del algodón GlyTol® TwinLink® (BCS-GHØØ2-5 x BCS-GHØØ4-7 x BCS-GHØØ5-8) en Programa piloto para el ciclo agrícola Primavera – Verano 2020. Este periodo incluye actividades previas a la siembra del algodón GLT tales como planeación de los estudios a realizar, importación, movilización de semilla, ciclo agrícola hasta la cosecha (seis meses), cosecha y despepite.